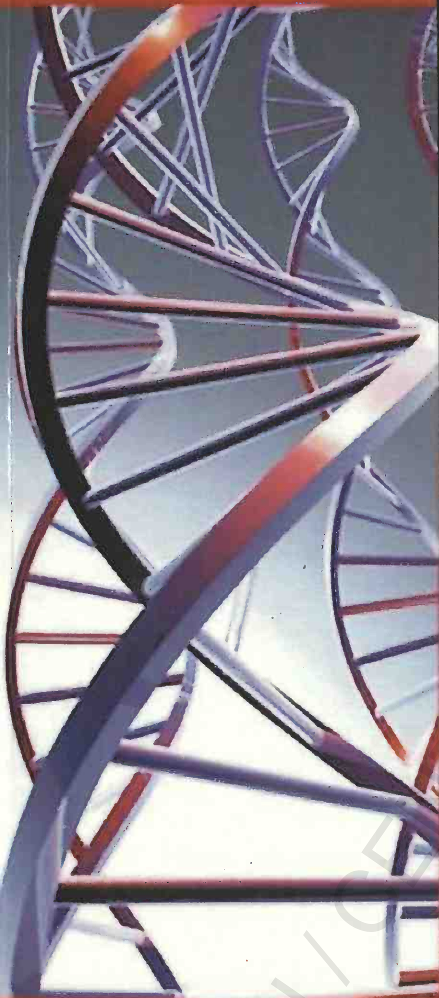
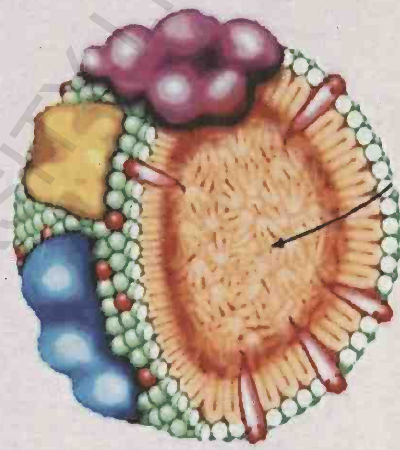
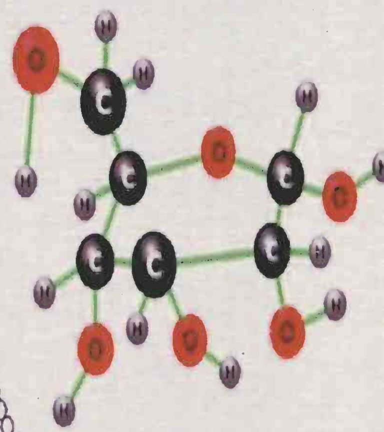
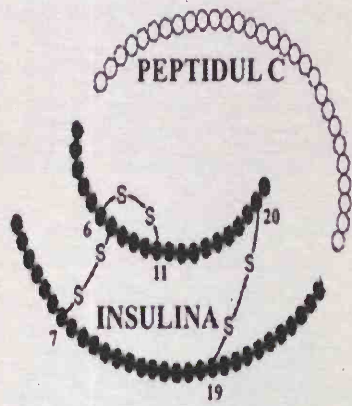
ANCA-MIHAELA NEGURĂ

INTRODUCERE ÎN BIOCHIMIA CLINICĂ



editura Tehnopress

Lector Dr.

Anca-Mihaela NEGURĂ

INTRODUCERE ÎN BIOCHIMIA CLINICĂ

Referent ştiinţific:

Profesor Dr. **Vlad ARTENIE**
Universitatea «Alexandru Ioan Cuza» Iaşi

EDITURA TEHNOPRESS
Str. Zimbrului nr.17
700047 Iaşi
Tel./fax: 0232 260092
E-mail: office@tehnopress.ro
http://www.tehnopress.ro
EDITURĂ ACREDITATĂ CNCSIS

Coperta:
Tehnoredactarea:

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale a României
NEGURĂ, ANCA MIHAELA
Introducere în biochimia clinică / Anca-Mihaela Negură. – Iaşi : Tehnopress, 2008

Bibliogr.
ISBN 978-973-702-527-2

577.1:616

ISBN 978-973-702-527-2

Lector Dr.
Anca-Mihaela NEGURĂ

INTRODUCERE ÎN BIOCHIMIA CLINICĂ

editura
Tehnopress

IAŞI – 2008

Referent științific:

Profesor Dr. Vlad ARTENIE

Universitatea «Alexandru Ioan Cuza» Iași

Părinților mei

CUPRINS

CAPITOLUL I. ECHILIBRUL HIDROELECTROLITIC: APA, SODIUL ŞI POTASIUL

INTRODUCERE

Distribuţia apei

Apa reprezintă aproximativ 60 % din greutatea totală a organismului uman la bărbat şi 55 % la femeie, diferenţa reflectând o mai mare proporţie de materie grasă în organismul femeii. În jur de 66 % din apă corespunde **lichidului intracelular (LIC)** şi 33 % **lichidului extracelular (LEC)**; doar 8 % din volumul total de apă se găseşte în plasmă (Figura I.1). La nou născuţi şi copii, apa totală reprezintă 75-80 % din greutatea corporală, cu un raport de volum LEC/LIC mai mare decât la adulţi, însă proporţia de apă totală conţinută în plasmă este aceeaşi.

În organism, apa nu este supusă unui transport activ. În general, ea trece liber între compartimentele intra- şi extracelulare, distribuţia sa fiind determinată de conţinutul osmotic al acestor compartimente. Cu excepţia rinichiului, concentraţiile osmotice (osmolalităţi) ale acestor compartimente sunt întotdeauna egale: ele sunt izotonice. Orice modificare a concentraţiei osmotice a compartimentelor provoacă o deplasare a apei, care restabileşte izotonicitatea.

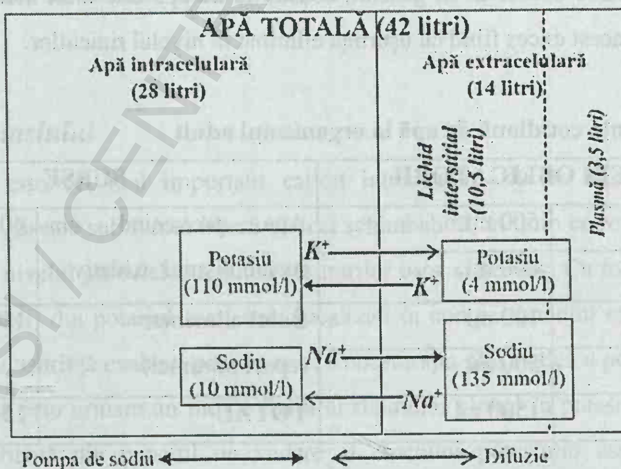


Figura I.1. Distribuţia apei, sodiului şi a potasiului într-un organism de 70 kg

Deşi volumul plasmatic este de 3,5 litri, volumul sanguin este de aproximativ 5,5 litri

Principalii factori determinanţi ai osmolalităţii lichidului extracelular (LEC) sunt sodiul şi anionii asociaţi, în special clorura şi bicarbonatul; la nivelul lichidului intracelular (LIC), cationul predominant este potasiul. Ceilalţi parametri determinanţi ai osmolalităţii din LEC includ glucoza şi ureea.

Contribuţia proteinelor este relativ scăzută din punct de vedere cantitativ, situându-se în jur de 0,5 %. Acest lucru rezultă din faptul că osmolalitatea depinde de concentraţia molară a substanţelor dizolvate: deşi concentraţia totală a proteinelor plasmatice este de aproximativ 70 g/l, masa lor moleculară ridicată reduce concentraţia lor molară combinată sub 1 mM. Cu toate acestea, endoteliul capilar fiind relativ impermeabil pentru proteine, iar concentraţia proteică a lichidului interstiţial fiind cu mult inferioară celei plasmatice, proprietăţile osmotice ale proteinelor reprezintă un factor important al distribuţiei apei între aceste două compartimente. Contribuţia proteinelor la presiunea osmotică a plasmei poartă numele de presiune coloid-osmotică sau presiune oncotică.

În condiţii fiziologice, aporturile şi eliminările apei din organism sunt echivalente pentru o perioadă determinată. Apa provine din alimentaţie şi din metabolismul oxidativ, pierderile fiind de natură renală, cutanee, pulmonară şi intestinală (Tabelul I.1). Cantitatea minimă de urină necesară pentru excreţia normală a deşeurilor metabolice este de aproximativ 500 ml în 24 de ore, datorită pierderilor obligatorii prin celelalte căi.

Aportul hidric minim cotidian necesar pentru menţinerea balanţei hidrice este de aproximativ 1100 ml, fiind mai important în cazurile de pierderi crescute, ca de exemplu prin transpiraţie sau diaree excesivă. În general, consumul de apă este mult mai important decât minimul necesar, acest exces fiind cu uşurinţă eliminat la nivelul rinichilor.

Tabelul I.1. Balanţa cotidiană de apă la organismul adult

PIERDERI OBLIGATORII		SURSE	
Piele	500 ml	Apa provenind din metabolismul oxidativ	400 ml
Plămâni	400 ml		
Intestine	100 ml	Bolul alimentar (aport minimal)	1100 ml
Rinichi	500 ml		
TOTAL	1500 ml	**TOTAL**	1500 ml

Distribuția sodiului

Un organism adult conține în jur de 4000 mmoli de sodiu, din care 70 % sunt ușor interschimbabili, restul găsindu-se sub formă complexată la nivelul oaselor. Majoritatea sodiului schimbabil este extracelular: concentrația normală a sodiului din LEC este de 135-145 mmoli/l, în timp ce aceea din LIC este de doar 4-10 mmoli/l.

Cea mai mare parte a membranelor celulare sunt impermeabile pentru sodiu, însă pot oricând surveni scurgeri, gradientul fiind menținut în permanență prin trecerea activă de sodiu dinspre LIC spre LEC, realizat de către Na^+, K^+ – ATP-ază.

La fel ca în cazul apei, aporturile și eliminările de sodiu sunt în mod normal echilibrate.

În țările occidentale, aportul zilnic de sodiu se situează între 100-200 mmoli/24 ore, însă pierderile obligatorii la nivelul rinichilor, al pielii și al intestinului sunt mai mici de 10 mmoli/24 ore. Din acest motiv, cantitatea necesară pentru a menține balanța sodiului este cu mult mai mică decât aportul obișnuit; sodiul în exces este excretat în urină. În ciuda acestei eliminări, consumul excesiv de sodiu este nefast pentru sănătate: este evident că acest exces poate contribui în mod semnificativ la hipertensiune.

Este esențială înțelegerea faptului că în organism are loc un permanent și important turn-over intern al sodiului. Sodiul este secretat la nivelul tubului digestiv într-o cantitate de aproximativ 1000 mmoli/24 ore, iar rinichii filtrează în jur de 25000 mmoli/24 ore; din aceste cantități, o mare majoritate este reabsorbită la nivelul intestinului și, respectiv, al tubulilor renali. Dacă există un deficit, chiar și parțial, al reabsorbției, homeostazia sodiului este perturbată.

Distribuția potasiului

Potasiul este cel mai important cation intracelular. 90 % din potasiul total al organismului se găsește sub formă liberă și deci schimbabilă, în timp ce restul se găsește sub formă legată, la nivelul globulelor roșii, al țesuturilor osos și nervos. Cu toate acestea, numai 2 % (50-60 mmoli) din potasiul total sunt localizați în compartimentul extracelular (Figura I.1), putând fi cu ușurință evaluați prin dozare. Concentrația plasmatică a potasiului, numită și kaliemie, nu este prin urmare un indice fiabil al statutului global în potasiu al organismului, însă este importantă din punctul de vedere al efectului potasiului asupra excitabilității membranare. Concentrația serică a potasiului este cu 0,2-0,3 moli/l mai crescută în raport cu

cea plasmatică, datorită eliberării potasiului de către trombocite în timpul formării cheagului, însă această diferență nu prezintă în general o incidență semnificativă.

Potasiul prezintă o tendință permanentă de a difuza contra propriului gradient de concentrație, dinspre LIC spre LEC, această tendință fiind contrabalansată prin acțiunea Na^+, K^+ - ATP- azei (pompa sodiului), care transportă potasiul în celule.

Homeostazia potasiului și tulburările aferente acesteia vor fi descrise puțin mai jos în acest capitol.

HOMEOSTAZIA APEI ȘI A SODIULUI

Apa și osmolalitatea lichidului extracelular (LEC)

Modificările la nivelul apei totale din organism, indiferent de cantitatea de substanțe dizolvate, afectează osmolalitatea (Figura I.2).

Osmolalitatea LEC este în mod normal menținută în intervalul 282-295 mosmol/kg de apă. Orice pierdere de apă la nivelul LEC, spre exemplu în caz de restricție hidrică, provoacă o creștere a osmolalității LEC și, din această cauză, o deplasare a apei din LIC spre LEC. De fapt, orice creștere moderată a osmolalității LEC stimulează centrul hipotalamic al setei, care provoacă dorința de sete, precum și osmoreceptorii hipotalamici, ceea ce conduce la o secreție de vasopresină (hormon antidiuretic sau ADH).

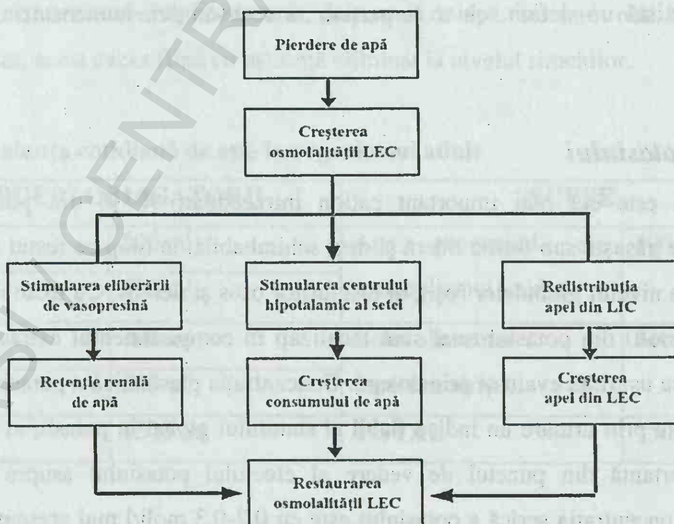
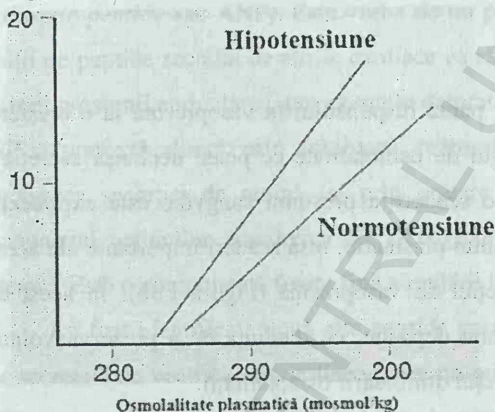


Figura I.2. Răspunsurile fiziologice ale organismului la pierderea de apă

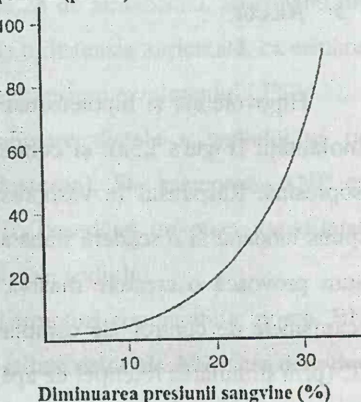
(LEC = lichid extracelular; LIC = lichid intracelular)

Vasopresina permeabilizează tubii colectori renali față de apă, permițând astfel reabsorbția apei și concentrarea urinei. Concentrația urinară maximă ce poate fi atinsă în organismul uman este de aproximativ 1200 mosmol/kg. Osmoreceptorii sunt extrem de sensibili la osmolalitate și pot răspunde la variații modeste de ordinul a 1 %. Vasopresina este indetectabilă în plasmă la o osmolalitate de 282 mosmol/kg, însă concentrația sa crește foarte mult odată ce osmolalitatea plasmatică depășește acest prag (Figura I.3a).

În cazul în care osmolalitatea din LEC scade, nu există senzație de sete, iar secreția de vasopresină este inhibată. Este produsă o urină diluată, care permite pierderea apei și revenirea la osmolalitatea normală a LEC. Dacă osmolalitatea LEC crește datorită prezenței unei substanțe dizolvate precum ureea, care difuzează cu ușurință la nivelul membranelor celulare, va crește deopotrivă și osmolalitatea LIC, și nu va avea loc stimularea osmoreceptorilor.



(a)



(b)

Figura I.3. Influența osmolalității LEC asupra secreției de vasopresină

(a) Secreția de vasopresină este stimulată de o creștere a osmolalității LEC deasupra pragului aproximativ de 282 mosmol/kg; în hipotensiune (linia superioară), acest prag este coborât, răspunsul fiind mai important.

(b) Secreția de vasopresină este stimulată exponențial de către hipotensiune.

Există şi alţi stimuli care afectează secreţia de vasopresină, cu ar fi angiotensina II, baroreceptorii arteriali şi venoşi, sau voloreceptorii (care „simt” presiunea şi, respectiv, volumul sanguin). Factorii care influenţează secreţia de vasopresină sunt următorii:

Factori stimulatori:

- Creşterea osmolalităţii LEC;
- Hipovolemie severă (prin intermediul angiotensinei şi a receptorilor arteriali şi venoşi);
- Stres, inclusiv durerea;
- Greţuri;
- Exerciţiul fizic;
- Medicamente: analgezice centrale, nicotină, anumiţi sulfoniluraţi, carbamazepine, clorfibrat, vincristina.

Factori inhibitori:

- Diminuarea osmolalităţii LEC;
- Hipovolemie;
- Alcool.

Hipovolemia şi hipotensiunea cresc panta răspunsului în vasopresină la o creştere a osmolalităţii (Figura I.3a), şi coboară pragul de osmolalitate ce poate declanşa secreţia de vasopresină. Răspunsul în vasopresină la o scădere a presiunii sangvine este exponenţial: răspuns moderat la o scădere slabă a volumului plasmatic, însă scăderi importante ale acestui volum provoacă o creştere masivă a secreţiei de vasopresină (Figura I.3b). În acest caz, mecanismele de control ale osmolarităţii sunt depăşite, cu tendinţa de a prezerva volumul LEC (prin stimularea retenţiei de apă), cu preţul diminuării osmolalităţii.

Sodiul şi volumul lichidului extracelular (LEC)

Volumul LEC depinde în mod direct de cantitatea totală de sodiu din organism, deoarece aporturile şi eliminările de apă sunt reglate în scopul menţinerii constante a osmolalităţii LEC, şi în aceeaşi măsură prin urmare a concentraţiei de sodiu, ţinând cont de faptul că sodiul este localizat aproape în totalitate la nivelul LEC.

Echilibrul (balanţa) sodiului este asigurat prin reglarea excreţiei sale renale. Excreţia sodiului depinde de filtrarea glomerulară, însă **debitul de filtrare glomerulară** (DFG) este un

factor limitant important doar în cazul debitelor de filtrare foarte joase. În acest sens, retenția sodiului este un semn tardiv al insuficienței renale cronice. În mod normal, aproximativ 70 % din sodiul filtrat sunt reabsorbiți activ la nivelul tubilor contorți proximali, precum și la nivelul ansei Henle. Mai puțin de 5 % din sodiul filtrat ajung până la nivelul tubilor contorți distali. Aldosteronul, eliberat de cortexul suprarenal ca un răspuns la activarea sistemului renină - angiotensină, stimulează reabsorbția sodiului la nivelul tubilor contorți distali și al canalelor colectoare, și reprezintă principalul factor de control al excreției renale de sodiu.

Totodată, în controlul reabsorbției sodiului sunt implicați și alți factori, în măsura în care pacienții prezentând o insuficiență suprarenală și aflați sub tratament substitutiv cu mineralocorticoizi, mențin o balanță echilibrată a sodiului, cu toate că la acești pacienți concentrațiile plasmatice în mineralocorticoizi nu sunt determinate de nivelul sodiului. La pacienții respectivi, administrarea cronică în doze fixe de mineralocorticoizi nu provoacă retenția sodiului decât pe perioade scurte de timp; ulterior, balanța sodiului este restabilită, chiar dacă este asociată cu creșterea volumului LEC.

Acest răspuns poate fi mediat prin intermediul peptidului atrial natriuretic (*atrial natriuretic peptide* sau ANP). Este vorba de un peptid de 28 de aminoacizi, aparținând unei familii de peptide secretat de atriile cardiace ca răspuns la o distensie auriculară, ca urmare a creșterii presiunii auriculare (spre exemplu datorata unei expansiuni a volumului LEC).
ANP acționează direct prin inhibarea reabsorbției tubulare distale a sodiului și prin diminuarea secreției de renină (și prin urmare de aldosteron). De asemenea, ANP este antagonistul acțiunilor noradrenalinei și angiotensinei II, posedând un efect vasodilatator sistemic. Este o componentă foarte fină a reglării homeostaziei sodiului.

Au fost identificate două alte peptide prezentând structuri comparabile: prima, BNP, este secretată de ventriculele cardiace și are proprietăți similare celor ale ANP; cea de-a doua, CNP, este prezentă în concentrații înalte la nivelul endoteliului vascular și are proprietăți vasodilatante. Dozarea BNP are o deosebită importanță în monitorizarea pacienților cu insuficiență cardiacă.
Creșterea secreției de peptide natriuretice a fost propusă ca mecanism fiziopatologic al natriurezei observate în sindromul pierderii de sodiu cu origine centrală.

Ca o regulă generală, mecanismele de control al volumului LEC răspund mai puțin rapid și sunt mai puțin precise decât cele ale osmolalității. Cu excepția cazurilor de hipovolemie severă, menținerea osmolalității este prioritară.

DEPLEȚIA HIDRICĂ ȘI DEPLEȚIA SODICĂ

Atât depleția hidrică cât și depleția combinată, hidrică și sodică, survin atunci când eliminările din organism sunt superioare aporturilor. Depleția hidrică pură este mai puțin frecventă decât depleția combinată în apă și sodiu. Având în vedere faptul că sodiul nu poate fi eliminat din organism fără apă, pierderea sa nu survine niciodată în mod izolat și este prin urmare întotdeauna acompaniată de o anumită pierdere de apă. Lichidul eliminat poate fi izotonic sau hipotonic în raport cu plasma.

Semnele clinice și biochimice sunt total diferite între depleția hidrică pură și pierderea izotonică de apă și sodiu, după cum răspunsurile fiziologice implicate în cele două situații sunt total diferite. Cu toate acestea, în practica clinică situațiile de pierdere lichidiană înglobează toate posibilitățile între aceste două extreme, semnele clinice și biochimice reprezentând imaginile acestor posibilități. În plus, trebuie deopotrivă ținut seama de faptul că anumite semne au putut fi modificate prin tratament.

Depleția hidrică

Depleția hidrică survine în cazul unui aport insuficient sau al pierderilor excesive de apă (Tabelul I.2).

O pierdere excesivă de apă fără pierdere asociată de sodiu este puțin frecventă (cu excepția cazului de diabet insipid) însă, cu condiția ca pierderea sodică să fie modestă, iar consecințele clinice sunt legate în primul rând de pierderea de apă (Tabelul I.2).

În gastro-enteritele infantile și în cazul aclimatizării la temperaturi înalte, o anumită cantitate de sodiu este pierdută prin tubul digestiv și la nivelul pielii, însă efectele pierderii hidrice pot predomina.

Pierderea de apă din lichidul extracelular (LEC) conduce la o creștere a osmolalității, care la rândul său provoacă o deplasare a apei din lichidul intracelular (LIC) spre cel extracelular (LEC), ceea ce atenuează creșterea osmolalității. Totuși, creșterea osmolalității LEC este suficientă pentru a stimula centrul hipotalamic al setei și secreția de vasopresină. Concentrația plasmatică a sodiului este crescută; în general, concentrația proteinelor plasmatice și hematocritul sunt doar puțin ridicate.

Cu excepția cazurilor de depleție datorate unor pierderi renale necontrolate, are loc o concentrare importantă a urinei și o diminuare rapidă a volumului urinar (Tabelul I.4).

În măsura în care pierderea de apă este suportată de pool-ul hidric total al organismului şi nu doar de LEC (Figura I.4), semnele de diminuare a volumului LEC nu sunt în general prezente. În plus, creşterea presiunii oncotice a plasmei tinde să menţină apa extracelulară în compartimentul vascular. Insuficienţa circulatorie nu reprezintă aşadar decât un semn foarte tardiv al depleţiei hidrice: ea survine cu precădere în cazul depleţiei sodice asociate.

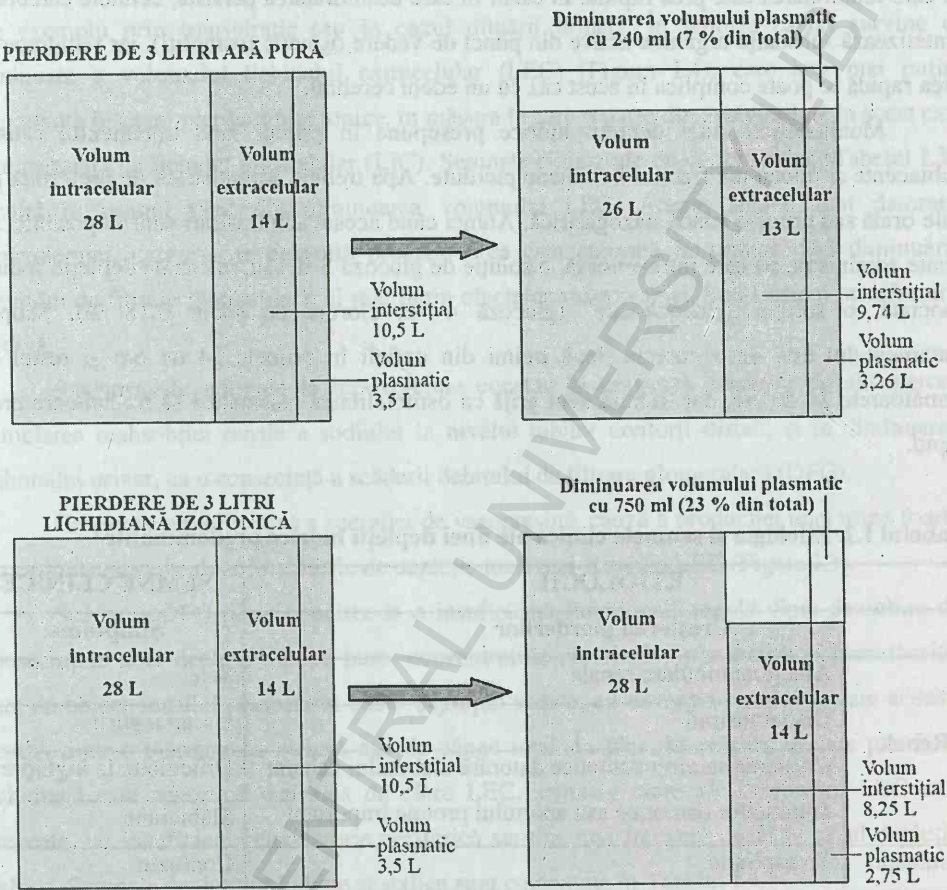


Figura I.4. Compararea consecinţelor unei pierderi de apă şi a unei pierderi de lichide izotonice la nivelul compartimentului extracelular (LEC)

Aşa cum se poate observa în Figura I.4, atunci când din lichidul extracelular (LEC) se pierde numai apă, creşterea osmolalităţii provoacă o mişcare a apei din lichidul intracelular (LIC), care minimizează diminuarea volumului plasmatic. Atunci când din LEC se pierde lichid izotonic, nu apare nici un dezechilibru osmotic, nu există nici o mişcare a apei dinspre LIC, consecinţele asupra volumului plasmatic fiind prin urmare mai importante. Într-o

manieră comparabilă, un exces de lichid izotonic rămâne în LEC, dar un exces de apă va fi repartizat la nivelul pool-ului hidric total, consecința asupra LEC fiind mai puțin importantă.

Depleția hidrică severă provoacă o deshidratare cerebrală, care poate fi la originea unei hemoragii cerebrale prin ruptura vaselor sangvine. Alterări cerebrale pot interveni și în cazul în care rehidratarea este prea rapidă. În cazul în care deshidratarea persistă, celulele cerebrale sintetizează substanțe organice active din punct de vedere osmotic (osmoliți), iar rehidratarea prea rapidă se poate complica în acest caz cu un edem cerebral.

Monitorizarea unei depleții hidrice presupune în primul rând tratamentul cauzei subiacente și înlocuirea fracției lichidiene pierdute. Apa trebuie administrată de preferință pe cale orală sau printr-o sondă nazogastrică. Atunci când aceste administrări sunt imposibile, se poate administra, pe cale intravenoasă, o soluție de glucoză 5 % sau, în caz de depleție sodică asociată, o soluție „glucoză-sare" (glucoză 4 %, clorură de sodiu 0,18 %). Scopul tratamentului este de a corecta două treimi din deficit în primele 24 de ore și restul în următoarele 24 de ore, dar trebuie avut grijă ca osmolalitatea plasmatică să nu coboare prea rapid.

Tabelul I.2. Etiologia și semnele clinica ale unei depleții hidrice predominante

ETIOLOGII		SEMNE CLINICE
Creșterea pierderilor		**Simptome**
Renale	Afecțiuni tubulare renale	Sete
	Diabet insipid	Uscarea gurii
	Creșterea sarcinii osmotice datorată diabetului zaharat, diureticilor osmotice sau aportului proteic important	Dificultate la înghițire
		Slăbiciune
Cutanate	Transpirație	Confuzie
Pulmonare	Hiperventilație	
Intestinale	Diaree (la nou-născuți)	

Diminuarea aporturilor	Semne
Copilărie timpurie	Pierderea greutății
Bătrânețe	Uscarea mucoaselor
Stare de inconștiență	Diminuarea secreției salivare
Disfagie	Diminuarea volumului urinar (precoce)
Restricția alimentației per os (bucale)	

Depleția sodică

Depleția hidrică este rareori datorată numai unui aport oral insuficient, însă o suplimentare parenterală neadaptată poate fi şi ea uneori responsabilă.

Cel mai adesea, depleția sodică este consecința pierderilor excesive de sodiu (Tabelul I.3). Pierderile de sodiu pot fi fie izotonice (de exemplu, pierderile din plasmă), fie hipotonice (de exemplu prin transpirație sau în cazul diluării urinei). În ambele cazuri survine o diminuare a volumului lichidului extracelular (LEC) (Figura I.4), care este mai puțin importantă în cazul pierderii hipotonice, în măsura în care o parte din apa pierdută în acest caz este partajată cu lichidul intracelular (LIC). Semnele clinice ale depleției sodice (Tabelul I.3) rezultă în primul rând din diminuarea volumului LEC. Aceste semne sunt datorate hipovolemiei. Oliguria se dezvoltă progresiv: ea este datorată în primul rând diminuării debitului de filtrare glomerulară, şi mai puțin efectelor vasopresinei. Setea este o manifestare tardivă.

Răspunsurile normale la hipovolemie constau în creşterea secreției de aldosteron, stimularea reabsobției renale a sodiului la nivelul tubilor contorți distali, şi în diminuarea volumului urinar, ca o consecință a scăderii debitului de filtrare glomerulară (DFG).

Creşterea semnificativă a secreției de vasopresină, cauză a producției unei urine foarte concentrate, survine doar în cazurile de depleție mult mai severă a LEC (Figura I.3).

Scăderea DFG poate conduce la o insuficiență funcțională renală. Spre deosebire de consecințele unei depleții hidrice pure, concentrațiile proteinelor plasmatice şi hematocritul sunt de obicei sensibil crescute în cazul depleției sodice, cu excepția cazului în care aceasta rezultă dintr-o pierdere de plasmă sau de sânge total. În plus, în măsura în care pierderea lichidiană este suportată mai ales de către LEC, semnele clare ale diminuării LEC sunt prezente, iar insuficiența circulatorie periferică survine mai frecvent decât în cazul depleției hidrice. Semnele depleţiilor hidrice şi sodice sunt comparate în Tabelul I.4.

Concentrația plasmatică a sodiului poate reprezenta o indicație a cantităților relative de apă şi sodiu care au fost pierdute: sodiul plasmatic este normal dacă pierderea lichidiană a fost izotonică şi este crescut în cazul pierderii hipotonice.

În caz de depleție sodică severă, creşterea secreției de vasopresină, secundară hipovolemiei rezultate, poate antrena o retenție de apă; în acest caz, volumul plasmatic este menținut cu prețul osmolalității, intervenind astfel o hiponatremie. Din acest motiv, concentrația plasmatică a sodiului la un pacient cu depleție sodică poate fi joasă, normală, sau crescută, după cum urmează :

➢ **Natremie crescută**: Pierdere de sodiu şi de apă, cu pierdere hidrică predominantă, de exemplu în transpiraţia excesivă;

➢ **Natremie normală**: Pierdere izotonică de sodiu şi de apă, de exemplu în arsuri sau hemoragii;

➢ **Natremie scăzută**: Pierdere de sodiu şi retenţie hidrică, ca de exemplu în tratamentul depleţiilor sodice izotonice cu lichide de perfuzie sărace în sodiu.

Tabelul I.3. Etiologia şi semnele clinice ale unei depleţii sodice predominante

ETIOLOGII		SEMNE CLINICE
Creşterea pierderilor		**Simptome**
Renale	Faza diuretică a «necrozei tubulare acute»	Slăbiciune
	Administrare de diuretice	Apatie
	Deficit de mineralocorticoizi	Ameţeli legate de postură
	Pierdere centrală de sodiu	Sincopă
	Alte stări de pierdere de sodiu	
Cutanate	Transpiraţie abundentă	**Semne**
	Fibroză chistică (Mucoviscidoză)	Pierdere în greutate
	Dermită extinsă Arsuri	Semne asociate diminuării volumului plasmatic: - Tahicardie - Hipotensiune - Insuficienţă circulatorie periferică - Oligurie
Intestinale	Vărsături, diaree Fistule Ileus Ocluzie intestinală	Semne asociate diminuării lichidului interstiţial : - Diminuarea presiunii intraoculare - Diminuarea turgorului cutanat
Aporturi insuficiente		
Depleţia sodică intervine în momentul în care aporturile sunt insuficiente pentru a compensa pierderile excesive ; o insuficienţă de aport izolată este rareori o cauză de depleţie.		

Monitorizarea unei depleţii sodice implică în primul rând tratamentul cauzei subiacente şi, dacă este necesar, restaurarea volumului intravascular prin administrarea unei soluţii izotonice (soluţie „sărat fiziologică”[clorura de sodiu 0,9 %] sau de natură coloidă [substituenţi de plasmă sau albumină]) în perfuzie intravenoasă.

Tabelul I.4. Semne clinice şi biologice ale depleţiilor sodice şi hidrice

	Depleţie sodică	Depleţie hidrică
Concentraţia [Na^+] plasmatică	Normală sau ↓	↑
Hematocrit	↑↑↑	Normală sau moderat ↑
Volumul LEC	↓↓↓	De obicei normal
Concentraţia [uree] plasmatică	↑	Limita superioară a valorii normale
Volumul urinar	↓	↓↓↓
Densitatea urinară	↑	↑↑↑
Sete	Tardivă	Precoce
Tahicardie, hipotensiune	Precoce	Tardivă

SUPRAÎNCĂRCAREA HIDRICĂ ŞI SODICĂ

Un exces de apă şi/sau de sodiu poate fi rezultatul unui deficit de excreţie normală sau a unui consum excesiv. Această ultimă etiologie este adesea de natură iatrogenă. Ca şi în sindroamele de depleţie, supraîncărcarea hidrică pură şi supraîncărcarea sodică cu retenţie izotonică de apă pot fi considerate ca două entităţi separate, deşi în practică există adesea un anumit grad de încrucişare.

Supraîncărcarea hidrică

Supraîncărcarea hidrică în general este în relaţie cu o deficienţă de excreţie a apei (Tabelul I.5). Totuşi, capacitatea limită de excreţie hidrică a unui rinichi sănătos este de aproximativ 20 ml/minut şi, uneori, un consum excesiv poate fi suficient prin el însuşi pentru a provoca o intoxicaţie cu apă. Acest caz poate fi întâlnit la anumiţi pacienţi prezentând tulburări psihice.

Creşterea setei poate surveni în anumite patologii organice cerebrale (în particular traumatisme, ori după o intervenţie chirurgicală), cu toate că mai frecventă este diminuarea senzaţiei de sete.

Hiponatremia este în mod sistematic asociată hiperhidratării. Creşterea sarcinii hidrice este împărţită între lichidul intracelular (LIC) şi cel extracelular (LEC).

Tabelul I.5. Etiologia şi semnele clinice ale unei supraîncărcări hidrice

<table>
<tr><th colspan="2">ETIOLOGII</th><th>SEMNE CLINICE</th></tr>
<tr><td colspan="2">Creşterea aporturilor</td><td>Perturbări comportamentale</td></tr>
<tr><td colspan="2">Potomanie (consum compulsiv de apă)</td><td>Confuzie</td></tr>
<tr><td colspan="2">Rehidratare parenterală excesivă</td><td>Dureri de cap</td></tr>
<tr><td colspan="2">Absorbţia de apă în cursul irigării vezicii urinare</td><td>Convulsii</td></tr>
<tr><td colspan="2">Diminuarea excreţiei</td><td>Comă</td></tr>
<tr><td colspan="2">Insuficienţă renală severă</td><td>Contracţii musculare</td></tr>
<tr><td colspan="2">Deficit de cortizol</td><td>Reflex extensor plantar</td></tr>
<tr><td colspan="3">Secreţie inadecvată sau ectopică de vasopresină</td></tr>
<tr><td rowspan="4">Medicamente</td><td colspan="2">Stimulatoare ale eliberării de vasopresină</td></tr>
<tr><td colspan="2">Potenţializatoare ale acţiunii vasopresinei (Clorpropamidă)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Agonişti ai vasopresinei (Ocitocină)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Interferente cu capacităţile renale de diluţie (Diuretice)</td></tr>
</table>

Semnele clinice ale supraîncărcării hidrice (Tabelul I.5) sunt legate de hiperhidratarea cerebrală, a cărei incidenţă şi severitate depind de gradul de supraîncărcare şi de durata perioadei de instalare a acesteia. Un pacient prezentând o concentraţie plasmatică a sodiului de 120 mmol/l, la care supraîncărcarea hidrică a survenit progresiv pe parcursul mai multor zile, poate fi asimptomatic, în timp ce alt pacient, la care acelaşi fenomen s-a dezvoltat într-o manieră acută, poate avea semne severe de hiperhidratare.

Monitorizarea unei supraîncărcări hidrice va fi discutată puţin mai jos, în acelaşi timp cu cea a hiponatremiei.

Supraîncărcarea sodică

Supraîncărcarea sodică se poate datora unui consum excesiv sau unei excreții diminuate. Semnele clinice corespund inițial expansiunii volumului lichidului extracelular (LEC). Atunci când este vorba de un consum excesiv (de exemplu, utilizarea nepotrivită a unei soluții sărate hipertonice), deplasarea rapidă a apei din compartimentul intracelular poate de asemenea provoca o deshidratare cerebrală. Hipernatremia este obișnuită atunci când supraîncărcarea sodică a fost cauzată de un consum excesiv.

Tabelul I.6. Etiologia și semnele clinice ale unei supraîncărcări sodice

ETIOLOGII	SEMNE CLINICE
Creșterea aporturilor	Edem periferic
Administrare parenterală excesivă	Dispnee
Substanțe emetice sărate	Edem pulmonar
Diminuarea excreției	Congestie venoasă
Diminuarea filtrării glomerulare:	Hipertensiune
Insuficiență renală acută și cronică	Epanșamente (acumulare de lichide în anumite țesuturi sau zone ale organismului)
Creșterea reabsorbției tubulare: Supraîncărcare primară în mineralocorticoizi: - Sindromul Cushing - Sindromul Conn Supraîncărcare secundară în mineralocorticoizi: - Insuficiență cardiacă congestivă - Sindromul nefrotic - Ciroză hepatică cu ascită - Stenoză arterială renală	Luare în greutate

Supraîncărcarea sodică este adesea datorată unei alterări a excreției mai degrabă decât unui consum excesiv.

Patologia renală reprezintă un context etiologic relativ puțin frecvent (Tabelul I.6). Creșterea secreției de mineralocorticoizi, datorată unei afecțiuni suprarenaliene primare, este de asemenea rară. Supraîncărcarea sodică este cel mai adesea în relație cu un

hiperaldosteronism secundar. Acest caz este întâlnit la pacienţii care, în ciuda manifestărilor clinice evidente de expansiune a volumului LEC (spre exemplu, edeme periferice), par să sufere de o diminuare a volumului circulant eficace, datorată de exemplu unei reduceri de rezistenţă vasculară sau unei perturbări în distribuţia normală a LEC între compartimentele vasculare şi extravasculare. Mulţi din aceşti pacienţi cu supraîncărcare sodică sunt, în mod paradoxal, în hiponatremie, ceea ce presupune un deficit coexistent de excreţie a apei libere. Acest lucru se datorează probabil în parte, unei creşteri a secreţiei de vasopresină, ca răspuns la diminuarea volumului circulant eficace. În plus, diminuarea debitului de filtrare glomerulară (DFG) şi, implicit, creşterea reabsorbţiei tubulare proximale a sodiului, provoacă o scădere a cantităţilor de sodiu şi de clorură de sodiu livrate la nivelul anselor Henle şi al tubilor contorţi distali. Acest fenomen diminuează capacitatea de diluţie renală, compromiţând astfel excreţia apei.

Monitorizarea unei supraîncărcări sodice trebuie să fie de natură cauzală, atunci când acest lucru este posibil. În plus, pot fi utilizate diuretice în scopul stimulării excreţiei sodiului, controlându-se totodată aporturile. Dializa este uneori necesară dacă funcţia renală este alterată, şi poate fi de asemenea indicată ocazional în cazurile de supraîncărcare sodică acută în relaţie cu administrarea de soluţii hipertonice.

EXPLORAREA BIOLOGICĂ A APEI ŞI A SODIULUI

Concentraţia plasmatică a sodiului depinde de cantităţile relative de apă şi sodiu din plasmă. Cu toate acestea, considerată izolat, ea nu furnizează nici o informaţie asupra conţinutului în sodiu al lichidului extracelular (LEC). Ea poate fi crescută, normală sau scăzută, la fel de bine în stările de supraîncărcare sau de depleţie sodică, în raport cu cantitatea de apă din LEC.

Concentraţia plasmatică a sodiului, denumită şi natremie, este unul din parametrii măsuraţi cel mai des în laboratorul de biochimie clinică (în mare parte din motive istorice), însă veritabilele indicaţii ale acestui dozaj sunt rare, iar rezultatele sunt adeseori interpretate greşit. Natremia ar trebui măsurată în următoarele indicaţii:

- La pacienţii prezentând o deshidratare sau o pierdere de lichide excesivă, în scopul de a ghida rehidratarea;

- La pacienții sub rehidratare intravenoasă, incapabili de a semnala senzația de sete sau de a-i răspunde (de exemplu cei aflați în comă, copiii sau persoanele în vârstă);
- La pacienții prezentând o stare de confuzie inexplicată, un comportament anormal sau semne de hiperexcitabilitate nervoasă.

În evaluarea stării hidrice şi sodice a unui pacient, anumite date clinice precum măsurarea presiunii venoase centrale, a repartiției apei sau a greutății corporale, pot furniza informații esențiale. O creştere a concentrației proteinelor plasmatice şi a hematocritului sugerează o hemoconcentrare. Alte rezultate anormale pot orienta către situații particulare; de exemplu, o hiperkaliemie la un pacient cu hiponatremie, prezentând manifestări clinice de depleție sodică, orientează către o insuficiență suprarenaliană.

Analiza urinară poate furniza informații interesante, însă rezultatele pot fi înşelătoare. Trebuie stabilit dacă volumul şi compoziția urinei sunt compatibile cu statutul în apă şi în sodiu al pacientului. Dacă nu sunt compatibile, trebuie găsită explicația. Spre exemplu, o excreție urinară scăzută în sodiu este un răspuns la un pacient cu hiponatremie prezentând o depleție sodică. La acest pacient, natriureza observată presupune fie o insuficiență a secreției de aldosteron, fie o incapacitate a rinichiului de a răspunde la acest hormon.

Dozarea sodiului

Concentrația sodiului este măsurată în mod tradițional prin flamfotometrie, tehnică ce determină numărul de atomi de sodiu într-un volum definit de soluție. La ora actuală, sodiul este dozat adesea utilizând electrozi selectivi, care evaluează activitatea sodiului, adică numărul de atomi care se comportă ca veritabili ioni într-un volum definit de apă.

În majoritatea situațiilor, cele două tehnici furnizează rezultate care, într-un obiectiv de practică clinică, sunt similare. Totuşi, de vreme ce activitatea corespunde măsurării sodiului în fracția hidrică a plasmei (în mod normal 93 % din volum), putem observa diferențe semnificative între activitate şi concentrație dacă fracția hidrică a plasmei este diminuată, aşa cum se întâmplă în cazurile severe de hiperlipidemie sau de hiperproteinemie. Concentrația sodiului, măsurată prin flamfotometrie şi exprimată în milimoli per litru de plasmă, va fi inferioară celei măsurate prin activitate. Într-adevăr, deşi concentrația sodiului în apa plasmatică rămâne neschimbată, există mai puțină apă şi deci mai puțin sodiu într-un volum dat de plasmă. Analizoarele cu electrozi selectivi, efectuând o diluție a plasmei înaintea dozajului, pot de asemenea furniza rezultate scăzute în mod fals. Acest artefact, cunoscut sub

numele de pseudohiponatremie, se întâlneşte doar în hiperlipidemiile severe, atunci când plasma este în mod obişnuit tulbure văzută cu ochiul liber, precum şi în cazurile de creştere importantă a proteinelor totale, în relaţie cu prezenţa unei imunoglobuline monoclonale. Dacă se suspectează o astfel de situaţie, trebuie măsurată osmolalitatea plasmatică: în fapt, osmolalitatea este reglată la nivel hipotalamic, prin eliberare de vasopresină. Osmolalitatea plasmatică este în principiu normală la un pacient prezentând o pseudohiponatremie.

Măsurarea osmolalităţii

Având în vedere că osmolalitatea, mai mult decât concentraţia în sodiu, este controlată de hipotalamus, ar fi logic de măsurat de fiecare dată osmolalitatea plasmatică mai degrabă decât natremia. Măsurarea osmolalităţii este însă mai puţin precisă decât cea a sodiului şi nu este automatizabilă foarte uşor. Cu toate acestea, ea rămâne utilă în anumite circumstanţe.

Măsurarea osmolalităţii poate contribui la interpretarea corectă a unei natremii prea scăzute şi este necesară în testele de restricţie hidrică. De asemenea, ea este utilă în explorarea pacienţilor suspectaţi de a fi ingerat substanţe precum etanolul sau etilenglicolul, deoarece în aceste cazuri are loc o creştere a osmolalităţii.

Această creştere poate fi evidenţiată prin compararea osmolalităţii măsurate cu valoarea apropiată aşteptată, calculată prin următoarea formulă (toate concentraţiile fiind exprimate în mmoli/l) :

$$\textbf{Osmolaritate} = 2 \times [Na^+] + [uree] + [glucoză]$$

Osmolalitatea măsurată şi osmolaritatea calculată au în mod normal valori foarte apropiate. Diferenţe semnificative pot apărea în cazul prezenţei în plasmă a unor substanţe anormale osmotic active (cum este cazul intoxicaţiilor), sau atunci când fracţia hidrică a plasmei este redusă, ca de exemplu în hiperlipidemii sau hiperproteinemii severe.

Dozarea fracţiei anionice

Modificarea concentraţiei plasmatice a sodiului poate fi însoţită de o modificare echivalentă a concentraţiei anionice. Principalii anioni ai lichidului extracelular (LEC) sunt clorurile şi bicarbonaţii. Sunt măsuraţi adesea bicarbonaţii (în sensul strict al termenului, dioxidul de carbon total), deoarece aceştia reflectă capacitatea tampon extracelulară. Este important de notat faptul că, pentru obţinerea unui rezultat exact, acest dozaj trebuie să fie

realizat pe un eşantion proaspăt recoltat, din cauza pierderii de dioxid de carbon în mediul ambiant.

Dozarea clorurilor plasmatice nu furnizează decât rareori mai multe informaţii decât dozarea sodiului singur, astfel încât este un examen ce ar putea fi neglijat în practica de rutină. Cu toate acestea, el poate fi util în diagnosticul acidozelor metabolice şi în câteva situaţii rare de depleţie în cloruri.

HIPONATREMIA

Găsirea unei concentraţii plasmatice a sodiului moderat scăzută este foarte frecventă. Concentraţia medie la pacienţii spitalizaţi este cu aproximativ 5 mmoli/l mai scăzută decât cea a unei persoane sănătoase.

Hiponatremia moderată este întâlnită într-o mare varietate a patologiilor, iar originea ei este de cele mai multe ori multifactorială (a se vedea mai jos hiponatremia de redistribuţie – *Sick cell syndrome*). În esenţă este vorba de un fenomen secundar care doar reflectă prezenţa maladiei; tratamentul trebuie să vizeze cauza subiacentă şi nu hiponatremia.

Hiponatremia severă necesită uneori prin ea însăşi un tratament propriu, însă cel mai adesea doar atunci când este asociată cu semne clinice ale intoxicaţiei cu apă (Tabelul I.5).

Originile hiponatremiei

Am insistat până aici pe faptul că, concentraţia plasmatică a sodiului depinde de cantităţile relative de sodiu şi de apă în plasmă, astfel încât o concentraţie scăzută nu reflectă în mod obligatoriu o depleţie sodică. În realitate, cel mai frecvent intervine o alterare a homeostaziei apei, care provoacă o retenţie hidrică şi deci o diluare a sodiului.

În general, la originea dezvoltării şi menţinerii unei hiponatremii se găseşte unul din cele trei mecanisme, cu toate că pe plan individual pot fi implicaţi mai mulţi factori. Aceste mecanisme sunt :

- Depleţia de sodiu (hiponatremie hipovolemică);
- Excesul de apă (hiponatremie normovolemică);
- Excesul de apă şi de sodiu (hiponatremie hipervolemică).

Depleția sodiului

Sodiul nu este niciodată eliminat fără o excreție paralelă de apă, o pierdere izotonică sau hipotonică neprovocând în general o diminuare a natremiei. Cu toate acestea, hiponatremia poate surveni la pacienți depletați în sodiu, putând fi datorată unei suplimentări inadecvate de lichid (de exemplu insuficientă în sodiu) sau, în cazul depleţiilor severe, a unui stimul hipotonic al secreției de vasopresină. Vasopresina trece dincolo de controlul osmolar şi permite o retenție de apă cu prețul scăderii osmolalității.

Important este faptul că, la pacienții prezentând o hiponatremie datorată unei depleții de sodiu, se regăsesc semnele clinice ale depleției (Tabelul I.3).

Cu excepția cazului în care pierderea sodiului este de origine renală, creşterea secreției de aldosteron provoacă o retenție renală maximală a sodiului, iar concentrația urinară a sodiului scade în general la mai puțin de 20 mmol/l. Acest element prezintă o mare valoare diagnostică pentru a afirma dacă hiponatremia se datorează unei depleții sodice.

Monitorizarea unei hiponatremii asociate unei depleţii de sodiu presupune tratamentul cauzei subiacente, precum şi un aport corespunzător de lichide, de exemplu prin ser fiziologic sau substitut de plasmă.

Concentrația plasmatică a sodiului este în general normală la pacienții tratați cu diuretice, însă aceste principii active au efecte complexe asupra homeostaziei sodiului şi a apei. Deşi inițial tinde să antreneze o depleție sodică, blocajul reabsorbției sodiului la nivelul segmentului cortical de diluție al nefronului poate împiedica excreția apei libere. Acest fenomen, probabil exacerbat de efectul secreției de vasopresină (ca urmare a hipovolemiei şi creşterii consumului de apă datorită setei), poate determina o hiponatremie, în principiu moderată. Cu excepția contextului spitalicesc, cauzele cele mai frecvente ale hiponatremiei hipovolemice sunt tratamentele cu diuretice.

Pierderea de sodiu cu origine centrală este o etiologie recent identificată de depleție sodică şi de hiponatremie. În măsura în care ea apare în mod caracteristic la pacienți ce au suferit un traumatism cranian sau după neurochirurgie, hiponatremia poate fi greşit etichetată ca o consecință a sindromului de secreție inadecvată a hormonului antidiuretic (SIADH, a se vedea mai jos). Totuşi, contrar cazurilor de SIADH, pierderea sodică de origine centrală este acompaniată în mod tipic de semne clinice şi biochimice de hipovolemie, cu existența unei diureze importante.

Această distincție este vitală, deoarece monitorizarea celor două afecțiuni este complet diferită: pacienții prezentând o pierdere sodică de origine centrală au nevoie de perfuzii cu soluții sărate izotonice, adeseori în cantități mari. SIADH este tratat printr-o restricție hidrică

sau, în cazurile severe, prin soluții sărate hipertonice (vezi mai jos). Originea pierderii sodiului ar putea fi eliberarea de către creier a peptidelor natriuretice.

Excesul de apă

Excesul de apă provoacă o hiponatremie de diluție, cu diminuarea osmolalității plasmatice. Poate surveni în prima fază, într-o manieră acută, ulterior unui consum excesiv de apă, însă această situație este rară.

Rinichii normali sunt capabili să excrete un litru de apă pe oră; intoxicația cu apă și hiponatremia se observă prin urmare doar atunci când sunt absorbite rapid cantități foarte mari de apă, ca în cazul unor maladii psihice, sau la marii băutori de bere.

Cel mai adesea însă, dezvoltarea acută a suprasarcinii hidrice și a hiponatrmiei este datorată asocierii dintre consumul excesiv al unui lichid hipotonic și alterarea diurezei.

Ca și în situația fiziologică, osmolalitatea este strict controlată, persistența unei hiponatremii de diluție presupunând fie o alterare a diurezei (datorate unei secreții continue și inadecvate de vasopresină) fie o alterare a funcției renale de diluție.

Diagnosticul de sindrom de secreție inadecvată a hormonului antidiuretic (SIADH) este adesea pus puțin în grabă, fără a fi considerate cu adevărat și alte cauze posibile ale hiponatremiei. Diagnosticul se bazează în general pe date clinice și pe alte rezultate biologice.

Esențială este măsurarea osmolalităților urinare și plasmatice: există o hipo-osmolalitate plasmatică, asociată unei creșteri inadecvate a osmolalității urinare. Aceasta nu este sistematic superioară celei plasmatice, dar depășește întotdeauna 50 mosmol/kg.

Edemul nu este o manifestare a SIADH: apa în exces este împărțită între LIC și LEC, impactul asupra volumului LEC fiind insuficient pentru a provoca un edem.

Dozarea vasopresinei contribuie rareori la un diagnostic diferențial: valori crescute ale acesteia sunt regăsite la majoritatea pacienților prezentând o hiponatremie, indiferent de originea acesteia.

Fără nici o îndoială, există mai multe tipuri de SIADH. Secreția hormonului poate fi de natură tumorală (producție ectopică – carcinom bronhic sau alte tumori, ca de exemplu timus și prostată), însă multe alte situații de secreție inadecvată corespund deopotrivă criteriilor SIADH :

a. Patologii pulmonare: pneumonie, tuberculoză, presiune pozitivă în ventilația mecanică;

b. Patologii cerebrale: traumatisme craniene, encefalite, tumori, anevrisme;

c. Situații diverse: dureri (de exemplu postoperatorii), porfirie acută intermitentă, sindromul Guillain-Barré, hipotiroidie, unele medicamente (hipnotice, clorpropamide, carbamazepine, ocitocine, alcaloizi din *Vinca herbacea*).

În unele din situațiile de mai sus, există un stimul neadecvat al secreției de vasopresină, cum ar fi stimularea voloreceptorilor în cursul ventilației artificiale, iar în altele o dereglare a osmostatului, în așa fel încât osmolalitatea este totuși controlată, dar într-un grad mai mic, corespunzând reajustării pragului de eliberare a vasopresinei. Diminuarea conținutului intracelular de substanțe dizolvate organice („osmoliți") poate corespunde unuia din mecanismele de dereglare a osmostatului.

Au fost descrise cazuri la care, atunci când osmolalitatea scade supresia secreției de vasopresină este incompletă și altele în care producția de vasopresină este în totalitate normală, iar acțiunea antidiuretică reflectă un răspuns anormal la hormon. În fine, anumite principii active stimulează eliberarea vasopresinei (Figura I.3) sau prezintă o acțiune asemănătoare vasopresinei (*vasopresin-like*) asupra rinichilor. Este prin urmare evident că o secreție inadecvată a hormonului nu este prezentă în mod sistematic la pacienții ce răspund criteriilor de diagnostic SIADH; din acest motiv, termenul preferabil ar fi „sindrom de antidiureză inadecvată".

Tratamentul logic al unei hiponatramii de diluție constă în restricția hidrică, la un nivel inferior celui necesar pentru menținerea echilibrului hidric, spre exemplu 400 ml/24 ore.

În hiponatremiile de diluție cronice și moderate, cu o concentrație a sodiului de 125-130 mmol/l, pacienții sunt în general asimptomatici, și un asemenea grad de restricție hidrică constituie în principiu un tratament suficient.

Dacă pacienții prezintă semne clinice de intoxicație cu apă (vezi mai sus, supraîncărcarea hidrică), cel mai probabil în caz de hiponatremie severă, ori când concentrația sodiului a scăzut brusc, o intervenție urgentă se poate dovedi necesară. Restricția hidrică este neplăcută și dificil de aplicat în situațiile cronice. Medicamentele antagoniste acțiunii vasopresinei asupra tubilor colectori renali, sunt larg utilizate în această indicație.

În cazul în care pacienții sunt simptomatici, trebuie corectată hiponatremia de urgență. O soluție sărată hipertonică (3 %) este perfuzată cu un debit suficient pentru a crește inițial natremia cu 1 mmol/l pe oră, fără însă a depăși 12 mmol/l în 24 ore. În mod paradoxal, dacă este prescris în paralel, un diuretic de ansă poate fi benefic: acesta permite încetinirea creșterii volumului moderat al LEC și stimulează retenția de sodiu la nivelul tubilor distali. Evaluarea clinică în mod regulat și dozările iterative ale sodiului plasmatic sunt esențiale. Perfuzia

trebuie să fie oprită imediat ce pacienţii devin asimptomatici, fără a lua în considerare natremia. În hiponatremia de diluţie cronică, o corectare prea rapidă a natremiei riscă să provoace o demielinizare osmotică centrală, sindrom neurologic caracterizat printr-o tetraplegie spastică, o paralizie pseudobulbară, precum şi tulburări cognitive. Pronosticul însă este extrem de rezervat.

Excesul de apă şi de sodiu

Apa şi sodiul în exces pot reprezenta o cauză relativ frecventă de hiponatremie. Acest exces este la originea hiponatremiei întâlnite în insuficienţa cardiacă congestivă, în stările de hipoproteinemie şi în câteva cazuri de insuficienţă renală.

Existenţa unui exces de sodiu este confirmată de semnele creşterii volumului LEC (de exemplu, în edemele periferice). Tratamentul logic al acestor pacienţi se concentrează prioritar asupra cauzei subiacente şi a eliminării excesului de sodiu şi de apă (de exemplu, prin diuretice). În ciuda hiponatremiei, nu trebuie administrate soluţii saline, dată fiind existenţa întotdeauna a unei suprasarcini sodice.

Alte cauze de hiponatremie

O diminuare a fracţiei hidrice a plasmei poate surveni în hiperproteinemii şi hiperlipidemii severe, aşa cum s-a văzut mai sus în acest capitol.

Adăugarea la plasmă a unei soluţii dizolvate rămase la nivelul lichidului extracelular (LEC) are tendinţa de a creşte osmolalitatea LEC. În mod acut, este determinată astfel o deplasare a apei dinspre LIC spre LEC, ceea ce diminuează concentraţia sodică a LEC şi stimulează secreţia de vasopresină, conducând în final la o retenţie de apă. Creşterea volumului LEC care rezultă din acest fenomen inhibă secreţia de aldosteron, provocând natriureza.

În cazul sindromului uremic nu există deplasare a apei dinspre LIC spre LEC.

În cazul insuficienţei renale, cinetica de creştere a concentraţiei plasmatice a ureei este lentă, ceea ce permite echilibrarea ureei între LIC şi LEC, şi deci evitarea oricărui dezechilibru osmotic.

O diminuare a sarcinii negative totale a proteinelor plasmatice, care contribuie la deficitul anionic, poate provoca o deplasare a sodiului plasmatic. Acest fenomen este neobişnuit, însă poate contribui la dezvoltarea hiponatremiei în cazul hipoalbuminemiei severe şi în gamopatiile monoglonale, dacă proteina monoclonală este încărcată pozitiv.

Hiponatremia de redistribuție (Sick cell syndrome)

Hiponatremia este adesea observată la pacienți suferind de o afecțiune acută sau cronică oarecare, fără o cauză evidentă.

Termenul de *sick cell syndrome* este utilizat pentru a descrie acest fenomen, atribuit unei creșteri a permeabilității membranei celulare pentru sodiu, cu sau fără o diminuare a activității pompei de sodiu. Totuși, orice pasaj transmembranar al sodiului ar trebui să fie însoțit de o deplasare izo-osmotică de apă, care să compenseze modificarea concentrației sodiului; este însă posibil ca sodiul să se fixeze de macromolecule intracelulare, anulându-și astfel propriul efect asupra osmolalității.

La unii pacienți poate fi observată o creștere variabilă a secreției de vasopresină, legată de stres sau de o altă cauză a SIADH. Reajustarea osmostatului, datorată de exemplu unei depleții de substanțe dizolvate organice intracelulare, poate fi de asemenea un factor favorizant.

Cu toate acestea, în practică, mecanismul hiponatremiei asociate cu *sick cell syndrome* este destul de puțin important. Hiponatremia nu este decât o consecință a cauzei subiacente, această cauză trebuind tratată și nu hiponatremia.

Explorarea unei hiponatremii

Din cele prezentate mai sus rezultă faptul că, în numeroase cazuri, originea hiponatremiei este identificată pe bază de criterii clinice, nefiind utile explorări complementare pentru monitorizarea pacienților. Chiar și în anumite situații aparent complexe, o evaluare clinică atentă și studiul echilibrului hidroelectrolitic permit adesea definirea mecanismului sau mecanismelor conexe, și deci orientarea diagnosticului.

Așa cum a fost menționat, hiponatremia datorată unei depleții sodice poate fi însoțită de semne fizice ale diminuării volumului LEC, cu toate că acest volum este normal la pacienții prezentând o supraîncărcare hidrică, și cu toate că, în cazul unui exces de apă și de sodiu, semnele observate corespund unei expansiuni a LEC.

În explorarea unei hiponatremii trebuie urmărite în principal următoarele elemente:

- Aspectul serului (căutarea unui aspect lipemic);
- Serul: Osmolalitate, Potasiu, Uree, Creatinină, Proteine totale, TSH și T4 liber;
- Hematocrit;
- Urina: Sodiu, Osmolalitate.

Cauzele cele mai frecvente ale hiponatremiei sunt rezumate în tabelul I.7, iar în figura I.5 este prezentat un algoritm de diagnostic al hiponatremiei. Trebuie notat faptul că înțelegerea mecanismelor fiziopatologice este esențială pentru o interpretare corectă a rezultatelor.

Tabelul I.7. Câteva cauze frecvente de hiponatremie

Cauze	Mecanisme	Volumul LEC
Administrarea intravenoasă de soluții inadecvate	Exces de apă	Normal sau crescut
Medicamente diuretice	Depleție sodică și retenție hidrică	Diminuat
Hiponatremie nespecifică (*sick cell syndrome*)	A se vedea în text	Normal
Insuficiență cardiacă congestivă	Retenție de sodiu și de apă	Crescut
Hipoproteinemii	Retenție de sodiu și de apă	Crescut
Carcinom bronșic	Exces de apă	Normal
Hiperglicemie, nutriție parenterală	Redistribuție izotonică	Normal

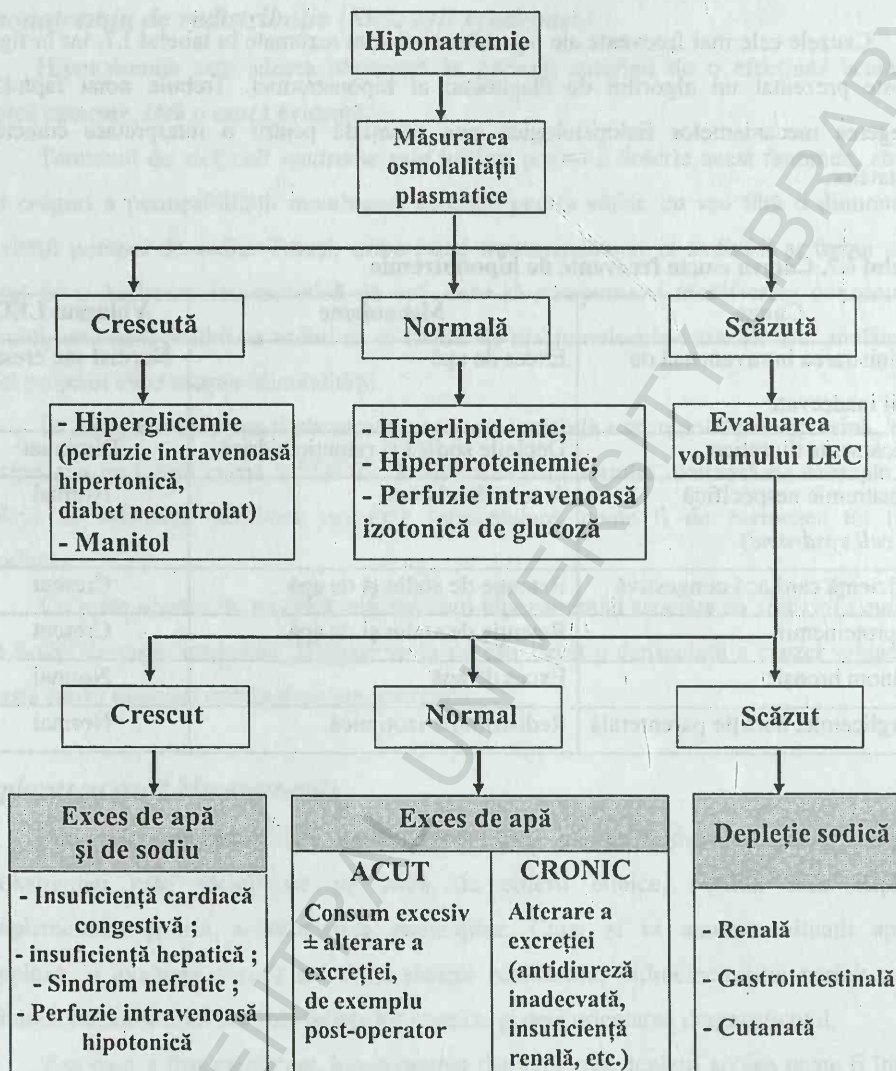


Figura I.5. Algoritm simplu de diagnostic al unei hiponatremii

În practică, hiponatremia este adesea multifactorială, însă una din cauze poate fi predominantă şi poate determina semnele clinice

Monitorizarea unei hiponatremii

Hiponatremia este prin definiţie manifestarea unei dereglări ce afectează homeostazia apei sau/şi a sodiului. Aşa cum a fost deja precizat, tratamentul cauzei subiacente este uneori asociat unor măsuri specifice care permit restabilirea balanţei apei şi celei a sodiului. Acestea variază în funcţie de mecanismul hiponatremiei, esenţiale fiind prin urmare identificarea cauzei şi înţelegerea mecanismelor fiziopatologice. Dacă sunt prezente simptome de intoxicaţie cu apă, sunt necesare măsuri urgente, însă bine calculate.

HIPERNATREMIA

Hipernatremia este mult mai puţin frecventă decât hiponatremia, însă este adesea semnificativă din punct de vedere clinic.

Cauzele posibile includ depleţia hidrică pură, depleţia combinată de apă şi de sodiu, cu o pierdere de apă predominantă, sau excesul de sodiu; din aceste etiologii, supraîncărcarea sodică este cea mai puţin frecventă.

În majoritatea cazurilor de hipernatremie, originea este evidentă, putând fi dedusă plecând de la istoricul pacientului şi de la observaţiile clinice. O etiologie importantă este reprezentată de diabetul insipid.

Fără a lua în considerare originea, hipernatremia trebuie tratată prin administrarea de soluţii dizolvate hipotonice, precum apa (pe cale orală) sau soluţie de glucoză 5 % (pe cale parenterală). La pacienţii prezentând o supraîncărcare sodică, trebuie avută în vedere eliminarea sodiului în exces. Aşa cum a fost deja subliniat, este important să nu se corecteze prea rapid o hipernatremie datorată unei depleţii hidrice.

HOMEOSTAZIA POTASIULUI

Balanţa (echilibrul) potasiului extracelular este controlată în primul rând de către rinichi şi, într-o mai mică măsură, de tractusul gastrointestinal.

La nivel renal, potasiul reabsorbit este aproape în întregime reabsorbit în tubii proximali. O secreţie activă a potasiului are loc în segmentele distale ale tubilor contorţi distali, însă excreţia potasiului este înainte de toate un fenomen pasiv.

Reabsorbţia activă a sodiului generează un potenţial de membrană care este neutralizat prin deplasarea potasiului şi a ionilor de hidrogen, dinspre celulele tubulare spre lumen. În acest context, excreţia urinară a potasiului depinde de mai mulţi factori :

- Cantitatea de sodiu disponibilă reabsorbţiei la nivelul tubilor contorţi distali şi al canalelor colectoare;
- Disponibilitatea relativă în ioni de hidrogen şi potasiu, la nivelul celulelor tubilor contorţi distali şi ale canalelor colectoare;
- Capacitatea celulelor de a secreta ioni de hidrogen;
- Concentraţia aldosteronului circulant;
- Nivelul debitului lichidului tubular: un debit înalt (spre exemplu, în cazul unei diureze osmotice sau al unui tratament cu diuretice) favorizează transferul potasiului spre lumenul tubular;

Aldosteronul stimulează excreţia potasiului, la început indirect, prin creşterea reabsorbţiei active de sodiu la nivelul tubilor contorţi distali şi al canalelor colectoare, dar şi în mod indirect, prin creşterea secreţiei active de potasiu în partea distală a tubilor contorţi distali. Secreţia de aldosteron de către cortexul suprarenalian este stimulată indirect prin sistemul renină-angiotensină, ca un răspuns la hipovolemie, dar şi direct prin hiperkaliemie.

În măsura în care ionii de hidrogen şi potasiul pot neutraliza potenţialul de membrană generat prin reabsorbţia activă a sodiului, există o strânsă legătură între homeostazia potasiului şi cea a ionilor de hidrogen.

În stare de acidoză, ionii de hidrogen sunt secretaţi preferenţial faţă de potasiu; în situaţie de alcaloză, excreţia ionilor hidrogen este slabă şi are loc o creştere a excreţiei de potasiu. Din acest motiv, există o tendinţă de hiperkaliemie în acidoze şi de hipokaliemie în alcaloze. O excepţie la această tendinţă o reprezintă acidoza tubulară renală, cauzată de un deficit de excreţie renală a ionilor hidrogen. În această situaţie, din cauza diminuării excreţiei de ioni hidrogen, are loc o creştere a secreţiei de potasiu în scopul contrabalansării reabsorbţiei sodiului. Rezultă astfel o asociere neobişnuită de hipokaliemie şi acidoză.

Relaţia dintre excreţia ionilor de hidrogen şi cea a potasiului explică de asemenea faptul că o depleţie potasică tinde să inducă o alcaloză. Dacă nu există suficient potasiu de excretat atunci când sodiul este reabsorbit, are loc o creştere a excreţiei ionilor de hidrogen.

Rinichiul sănătos este mai puţin eficient în prezervarea potasiului decât în cea a sodiului: chiar dacă alimentaţia este în totalitate lipsită de potasiu, excreţia urinară rămâne constantă, în jur de 10-20 mmoli/24 ore. Ţinând cont că există de asemenea o pierdere

obligatorie, de aproximativ 15-20 mmoli/24 ore, rinichiul nu efectuează vreo compensaţie dacă aportul coboară sub 40 mmoli/24 ore. Alimentaţia normală conţine în medie mai mult decât atât. Totuşi, chiar în cazul unei alimentaţii normale, depleţia potasică se poate instala dacă există o creştere a pierderilor.

Potasiul este secretat în lichidul gastric, iar această fracţie secretată este în mare parte reabsorbită la nivelul intestinului subţire, în acelaşi timp cu absorbţia potasiului alimentar. La nivelul colonului şi rectului, potasiul este secretat în schimbul sodiului, parţial sub controlul aldosteronului. Materiile fecale conţin în mod normal foarte puţin potasiu, însă pot avea loc scurgeri considerabile în caz de fistule sau de diaree cronică, ori în cazul pierderilor de secreţii gastrice prin vomă sau aspiraţie nazogastrică.

Deplasările potasiului între compartimentele intra- şi extracelulare au o importantă repercusiune asupra concentraţiei plasmatice. Captarea celulară a potasiului este stimulată de către insulină. Ionii de potasiu provenind din lichidul extracelular (LEC), intră în celule în mod pasiv, în schimbul sodiului, care este excretat activ datorită unei pompe de sodiu membranare ATP - dependente. Hiperkalemia poate rezulta astfel din alterarea activităţii pompei de sodiu sau dintr-o lezare a membranelor celulare.

Deplasările transcelulare ale ionilor de hidrogen pot provoca şi deplasări reciproce ale potasiului. În acidoza sistemică, tamponarea intracelulară a ionilor de hidrogen determină o deplasare a potasiului către LEC. În alcaloză, are loc o mişcare a ionilor de hidrogen dinspre LIC către LEC, şi prin urmare o deplasare netă a potasiului în sens contrar, ceea ce are ca tendinţă producerea unei hipokaliemii.

DEPLEŢIA POTASICĂ ŞI HIPOKALIEMIA

Depleţia potasică survine atunci când eliminările depăşesc aporturile.

Potasiul este prezent în numeroase alimente, aportul alimentar normal fiind de 60-200 mmoli/24 ore şi, cu excepţia pacienţilor în situaţie de abţinere temporară de la mâncare (à jeun), dar aportul insuficient este rareori singura cauză a depleţiei potasice. În schimb, creşterea pierderilor potasice survine destul de frecvent, putând fi vorba de pierderi digestive sau renale. Dacă excreţia reală a potasiului este inferioară de 40 mmoli/l la un pacient cu hipokaliemie, originea deficitului nu constă în nici un caz într-o excreţie renală excesivă. Un complex iatrogen este cel mai adesea implicat în fiziopatologia depleţiilor potasice.

Cauzele hipokaliemiei pot fi rezumate astfel:

- Diminuarea aporturilor de K^+
  - Orală
  - Parenterală
- Deplasările transcelulare ale K^+
  - Alcaloză
  - Administrare de insulină
  - Agonişti β-adrenergici
  - Proliferare celulară rapidă
- Creşterea excreţiei de K^+
  - Renală
    - Diuretice
    - Faza diuretică a insuficienţei renale acute
    - Exces de mineralocorticoizi
      - Hiperaldosteronism primar
      - Hiperaldosteronism secundar
      - Sindromul Cushing
      - Acidoză tubulară renală (tip 1 şi 2)
  - Extrarenală
    - Diaree
    - Abuz de laxative
    - Adenom vilos al rectului
    - Vomismente sau aspiraţii nazogastrice
    - Fistule enterocutanate
    - Transpiraţie abundentă

Atunci când hipokaliemia rezultă dintr-o depleţie potasică, ea se instalează cel mai adesea lent, şi se corectează de asemenea lent atunci când este tratată afecţiunea cauzală. În schimb, hipokaliemia ce rezultă dintr-o redistribuţie a potasiului, dinspre compartimentul extracelular spre cel intracelular, se dezvoltă de obicei într-o manieră acută şi se normalizează rapid.

Semne clinice ale hipokaliemiei

O hipokaliemie, fie ea şi severă, poate fi asimptomatică.

Hipokaliemia provoacă o hiperpolarizare a membranelor excitabile, diminuând astfel excitabilitatea acestora. Atunci când simptomele sunt prezente, ele sunt legate în primul rând de perturbări ale funcţiei neuromusculare, la care se adaugă altele de natură cardiacă, renală sau metabolică :

- Perturbări neuromusculare: Slăbiciune, constipaţie, ileus, hipotonie, depresie, confuzie ;
- Perturbări cardiace: Tulburări de ritm, potenţializarea toxicităţii digoxinei, modificarea ECG;
- Perturbări renale: Alterarea capacităţilor de concentrare antrenând poliurie şi polidipsie (efect datorat creşterii sintezei de prostaglandine, agoniste ale acţiunii ADH);
- perturbări metabolice: Alcaloză

Monitorizarea pacientului

Deşi kaliemia este un foarte slab indicator al pool-ului total de potasiu din organism, o concentraţie plasmatică de 3,0 mmol/l indică în general un deficit de ordinul a 300 mmoli. Cu toate acestea, de vreme ce deficitul se referă aproape în totalitate la LIC, iar potasiul administrat pătrunde mai întâi în LEC, tratamentul trebuie să fie întreprins cu precauţie, mai ales dacă se utilizează calea intravenoasă.

Cu titlu indicativ, posologia ce nu trebuie depăşită fără un motiv serios este administrarea de potasiu: un debit de 20 mmol/oră, o concentraţie de 40 mmol/l în lichidul de perfuzie, sau un total de 140 mmol/24 ore. Omogenizarea minuţioasă a potasiului în lichidul de perfuzat este esenţială, iar concentraţiile plasmatice trebuind verificate pe toată durata tratamentului. Dacă excepţional sunt necesare doze foarte importante şi mai ales dacă există o alterare a funcţiei renale, este utilă o monitorizare electrocardiografică (ECG), deoarece modificări caracteristice ale acesteia survin în paralel cu variaţiile kaliemiei.

SUPRAÎNCĂRCAREA POTASICĂ ŞI HIPERKALIEMIA

Supraîncărcarea potasică se poate datora unui aport excesiv sau unei scăderi a excreţiei. Un aport normal prin alimentaţie se poate dovedi excesiv dacă excreţia este diminuată, cum ar fi de exemplu în insuficienţa renală. Un aport excesiv este aproape întotdeauna de origine iatrogenă şi parenterală. Cauzele hiperkaliemiei pot fi rezumate astfel :

➢ False hiperkalemii
   - Hemoliză
   - Separare diferită a plasmei
   - Contaminare

➢ Aporturi excesive de K^+
   - Pe cale orală (rară, cu excepţia administrării concomitente de diuretice care nu elimină şi potasiul)
   - Perfuzie intravenoasă
   - Transfuzie sanguină

➢ Deplasările transcelulare ale K^+
   - Alterări tisulare
   - Stări catabolice
   - Acidoză sistemică
   - Lipsă de insulină

➢ Scăderea excreţiei de potasiu
   - Insuficienţă renală acută
   - Insuficienţă renală cronică (tardiv)
   - Diuretice care nu elimină şi potasiul
   - Inhibitori ai enzimei de conversie (a angiotensinei)
   - Deficit de mineralocorticoizi
      - Maladia Addison
      - Suprarenalectomie

Hiperkaliemia poate rezulta dintr-o supraîncărcare de potasiu, dar şi din redistribuirea potasiului dinspre compartimentul intracelular spre cel extracelular. Acest mecanism poate uneori determina o hiperkaliemie, chiar şi la un pacient cu depleţie potasică (ca de exemplu în acidocetoza diabetică). Ca şi în cazul hipokaliemiei, pot exista mai multe cauze asociate hiperkaliemiei. Un artefact destul de frecvent este falsa hiperkaliemie, datorată eliberării potasiului de către eritrocite in vitro. Dacă este găsită o hiperkaliemie neaşteptată având în

vedere contextul clinic, trebuie verificat cu atenţie să nu fie vorba de o falsă hiperkaliemie. De aceea este necesară repetarea dozajului pe un eşantion proaspăt recoltat. Însă falsa hiperkaliemie poate surveni şi în absenţa unei hemolize clare; o pierdere celulară de potasiu în plasmă poate surveni rapid la pacienţii prezentând o cantitate mărită de leucocite sau de trombocite (de exemplu în cazul leucemiei).

Semne clinice ale hiperkaliemiei

Hiperkaliemia este mai puţin frecventă decât hipokaliemia, însă mult mai periculoasă: prin acţiunea sa asupra funcţiei cardiace, ea poate ucide fără să prevină. Hiperkaliemia diminuează potenţialul membranar de repaus, scurtează potenţialul de acţiune cardiac şi măreşte viteza de repolarizare. Prima manifestare a hiperkaliemiei poate fi un stop cardiac prin asistolie sau prin fibrilaţie ventriculară lentă. Este prin urmare imperativ să fie cunoscută această toxicitate în anumite circumstanţe particulare, ca de exemplu în insuficienţă renală acută, pentru a asigura o monitorizare rapidă şi adecvată. Modificări caracteristice ale ECG preced uneori stopul cardiac.

Monitorizarea pacientului

Administrarea intravenoasă de gluconat de calciu (10 ml de soluţie 10 % administraţi timp de 1 minut, repetat dacă e nevoie) aduce un anumit grad de protecţie imediată a miocardului şi are un efect antagonist hiperkaliemiei asupra excitabilităţii miocardice. Asocierea glucozei cu insulină pe cale intravenoasă (de exemplu 500 ml de soluţie glucoză 20 % împreună cu 20 unităţi de insulină, administrate în 30 de minute) stimulează captarea intracelulară a potasiului. Salbutamolul, care activează Na^+, K^+- ATP-aza, prezintă un efect similar. La un pacient cu acidoză, hiperkaliemia poate fi controlată temporar printr-o perfuzie de bicarbonat.

În insuficienţa renală acută ca şi în alte situaţii în care hiperkaliemia este dificil de controlat, sunt necesare dializa sau hemofiltrarea.

În insuficienţa renală cronică, restricţia aporturilor de potasiu şi administrarea per os de răşini schimbătoare de ioni permit adesea prevenţia cu succes a hiperkaliemiilor periculoase, până în momentul în care din alte motive devine necesară dializa.

Urmărirea ECG este foarte indicată la pacienţii cu hiperkaliemie. Variaţiile kaliemiei sunt reflectate prin modificări ale profilului ECG, mult mai repede decât ar putea fi prin dozări biochimice.

CAPITOLUL II. HOMEOSTAZIA ACIDO-BAZICĂ ŞI GAZELE SÂNGELUI

INTRODUCERE

Funcţionarea normală a metabolismului implică o producţie netă de 40-80 mmoli de ioni hidrogen la fiecare 24 de ore, ioni proveniţi în principal din oxidarea aminoacizilor cu sulf. Această concentraţie de ioni de hidrogen este excretată prin urină de către rinichi.

Pe de altă parte, există în organism un flux continuu de ioni hidrogen rezultaţi din procesele metabolice normale.

Oxidarea incompletă a substraturilor energetice generează acizi (de exemplu, acid lactic prin glicoliză, sau corpi cetonici proveniţi din metabolismul trigliceridelor), însă metabolismul ulterior al acestor intermediari permite reutilizarea lor (de exemplu, neoglucogeneza pornind de la lactat, sau oxidarea corpilor cetonici).

La un individ sănătos poate să apară un dezechilibru temporar între producţia şi consumul de acizi (de exemplu, acumularea acidului lactic în timpul unui efort anaerob), însă în general echilibrul este respectat, fără vreo influenţă asupra excreţiei nete de ioni de hidrogen.

De obicei este mult mai importantă producţia de acid sub formă de dioxid de carbon în timpul metabolismului oxidativ, producător de energie. În 24 de ore sunt produşi în acest mod peste 15.000 moli de dioxid de carbon, care în mod normal vor fi eliminaţi de către plămâni. Cu toate că dioxidul de carbon nu este prin el-însuşi un acid, acesta suferă în prezenţa apei o reacţie de hidratare formând un acid slab, acidul carbonic:



(Ecuaţia 1) $$CO_2 + H_2O \leftrightarrows H_2CO_3$$

Dioxidul de carbon este eliminat din organism prin aerul expirat.

Dat fiind faptul că ionii de hidrogen sunt produşi în cantitate stoechiometrică plecând de la dioxidul de carbon, producţia zilnică normală de dioxid de carbon este potenţial echivalentă a cel puţin 15 mmoli de ioni hidrogen. La individul sănătos, ventilaţia pulmonară este controlată în aşa fel încât excreţia dioxidului de carbon să corespundă exact cantităţii produse.

Mecanismele care reglează homeostazia dioxidului de carbon şi a ionilor de hidrogen sunt foarte eficiente.

Dezechilibrele temporare pot fi compensate prin puterea de tamponare, astfel încât concentrația totală a ionilor de hidrogen să fie menținută în limite înguste (35-45 nmoli/l, echivalent la pH 7,35-7,46) la nivelul lichidului extracelular (LEC). Concentrația intracelulară a ionilor de hidrogen este uşor mai crescută, fiind de asemenea reglată într-o manieră foarte strictă. Cu toate acestea, în patologie pot avea loc dezechilibre între formarea acizilor şi excreția lor, dezechilibre ce conduc, în caz de persistență, la acidoze sau alcaloze.

Sistemele tampon ale ionilor de hidrogen

Formarea ionilor de hidrogen este compensată de capacitatea tampon, care limitează astfel creşterea concentrației ionilor hidrogen care ar surveni în absența ei.

Un sistem tampon este alcătuit dintr-un acid slab, adică un acid disociat incomplet, împreună cu baza lui conjugată. Dacă la un astfel de sistem sunt adăugați ioni de hidrogen, o parte din aceştia se combină cu baza conjugată, care este în acest caz transformată în acid nedisociat. De exemplu, adiția de ioni hidrogen la sistemul bicarbonat / acid carbonic (HCO_3^- / H_2CO_3) orientează reacția spre dreapta, crescând cantitatea de acid carbonic formată şi consumul ionilor bicarbonat:



(Ecuația 2) $$H^+ + HCO_3^- \leftrightarrows H_2CO_3$$

Invers, atunci când concentrația în ioni de hidrogen scade, acidul carbonic se disociază, generând astfel ioni hidrogen.

Eficacitatea oricărui sistem tampon este limitată de către concentrația sa şi de către valoarea sa la echilibru. Un sistem tampon acționează mai eficient la concentrații în ioni de hidrogen care vor genera concentrații aproximativ egale de acid nedisociat şi de bază conjugată.

Sistemul tampon bicarbonat este cel mai important al lichidului extracelular (LEC) chiar dacă, la concentrații extracelulare normale în ioni de hidrogen, concentrația în acid carbonic este în jur de 1,2 mmoli/l, cea a bicarbonatului fiind de 20 de ori mai mare. Cu toate acestea, capacitatea tampon a sistemului bicarbonat este considerabil crescută prin faptul că acidul carbonic se poate forma foarte uşor pornind de la dioxid de carbon, putând fi eliminat foarte uşor prin conversia sa în dioxid de carbon şi apă (Ecuația 1).

Pentru fiecare ion de hidrogen tamponat de către bicarbonat (Ecuația 2), este consumat un ion bicarbonat. Pentru a menține capacitatea sistemului tampon, bicarbonatul trebuie

regenerat. Totuşi, atunci când bicarbonatul se formează plecând de la acid carbonic (indirect plecând de la dioxid de carbon şi apă), se formează simultan cantităţi echimolare de ioni hidrogen. (Ecuaţia 2). Formarea bicarbonatului continuă doar dacă ionii de hidrogen sunt eliminaţi. Acest proces survine în organism la nivelul celulelor tubilor renali, unde ionii de hidrogen sunt secretaţi în urină, în timp ce bicarbonatul este generat şi reţinut în organism.

Reabsorbţia bicarbonatului şi excreţia ionilor de hidrogen

Filtratul glomerular conţine aceeaşi concentraţie în ioni bicarbonat (HCO_3^-) ca şi plasma. Dacă bicarbonatul nu ar fi reabsorbit, cantităţi importante ar fi excretate prin urină, diminuând capacitatea tampon a organismului şi provocând o acidoză. La un individ sănătos, cu concentraţii normale de bicarbonat plasmatic, aproape tot bicarbonatul filtrat este reabsorbit.

Suprafaţa luminală a celulelor tubulare renale este impermeabilă pentru bicarbonat, motiv pentru care reabsorbţia directă este imposibilă.

În interiorul celulelor tubulare renale, acidul carbonic se formează pornind de la dioxid de carbon şi apă (Ecuaţia 1). Această reacţie, lentă atunci când este spontană, este catalizată la nivelul rinichiului de către enzima numită anhidraza carbonică.

Acidul carbonic format în acest mod disociază în ioni de hidrogen şi ioni bicarbonat (Ecuaţia 2). Ionii bicarbonat traversează bordurile bazolaterale ale celulelor tubulare renale către lichidul interstiţial. Ionii de hidrogen sunt secretaţi de către membrana luminală, în schimbul ionilor de sodiu ce însoţesc bicarbonatul către lichidul interstiţial (Figura II.1). Formarea bicarbonatului şi a ionilor de hidrogen este facilitată de continua lor circulaţie (*turn-over*) şi de prezenţa anhidrazei carbonice.

La nivelul lichidului tubular, ionii de hidrogen se combină cu bicarbonatul pentru a forma acid carbonic, din care cea mai mare parte disociază în dioxid de carbon şi apă. O parte a dioxidului de carbon se întoarce prin difuziune către celulele tubulare renale, cealaltă fracţie fiind excretată în urină. În ansamblu, acest mecanism permite reabsorbţia bicarbonatului filtrat.

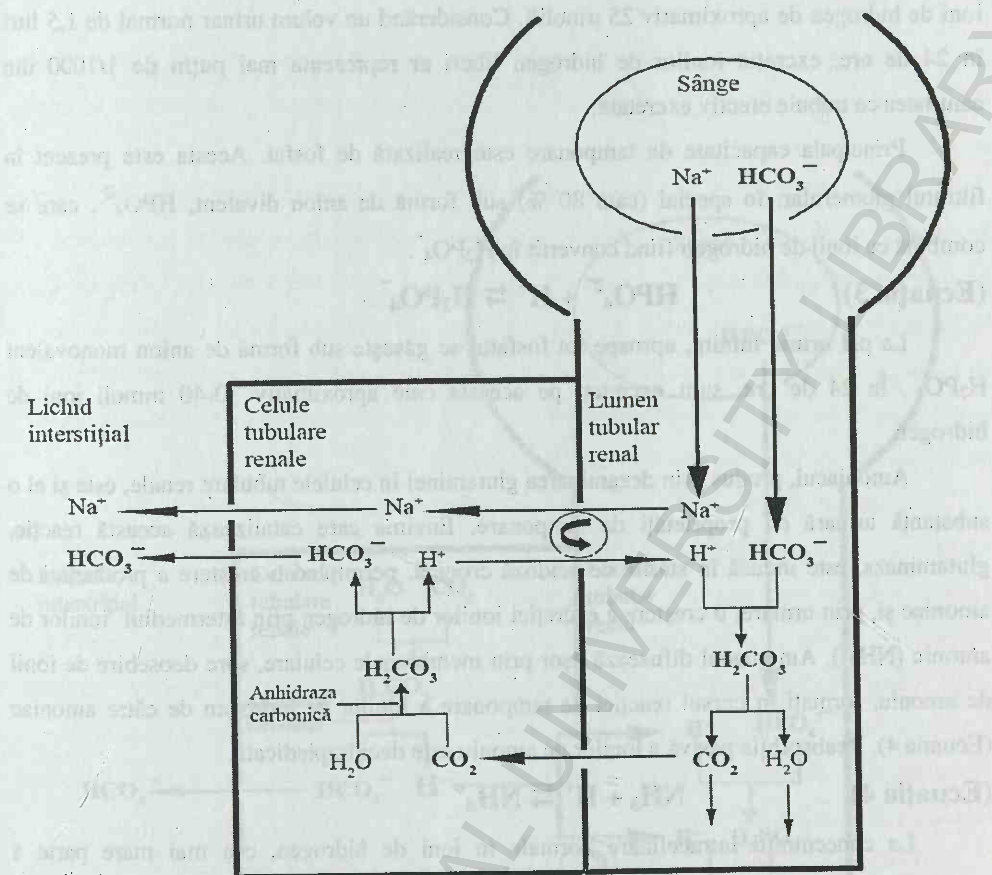


Figura II.1. Reabsorbția bicarbonatului filtrat de către celulele tubulare renale *Bicarbonatul nu poate fi absorbit în mod direct. Ionii de hidrogen și bicarbonatul sunt generați în celulele tubulare renale, ionii de hidrogen fiind secretați, în schimbul sodiului, în lumenul tubular, unde se combină cu bicarbonatul filtrat pentru a forma dioxid de carbon și apă. Ionii bicarbonat difuzează împreună cu sodiul, din celulele tubulare către lichidul interstițial, și de acolo în plasmă.*

Cu toate că odată cu reabsorbția bicarbonatului, ionii de hidrogen sunt secretați în lichidul tubular, nu există o excreție acidă netă. Formarea ionilor de hidrogen furnizează doar mijloacele de reabsorbție a bicarbonatului. Excreția acidă netă depinde de aceleași reacții, care au loc în celulele tubulare renale, însă necesită în plus prezența unui sistem tampon apropriat în urină. pH-ul urinar minim este de 4,6, ceea ce echivalează unei concentrații în

ioni de hidrogen de aproximativ 25 µmoli/l. Considerând un volum urinar normal de 1,5 litri în 24 de ore, excreția ionilor de hidrogen liberi ar reprezenta mai puțin de 1/1000 din cantitatea ce trebuie efectiv excretată.

Principala capacitate de tamponare este realizată de fosfat. Acesta este prezent în filtratul glomerular, în special (cam 80 %) sub formă de anion divalent, HPO_4^{2-}, care se combină cu ionii de hidrogen fiind convertit în $H_2PO_4^-$:



(Ecuația 3) $$HPO_4^{2-} + H^+ \leftrightarrows H_2PO_4^-$$

La pH urinar minim, aproape tot fosfatul se găsește sub formă de anion monovalent $H_2PO_4^-$. În 24 de ore, sunt excretați pe această cale aproximativ 30-40 mmoli ioni de hidrogen.

Amoniacul, produs prin dezaminarea glutaminei în celulele tubulare renale, este și el o substanță urinară cu proprietăți de tamponare. Enzima care catalizează această reacție, glutaminaza, este indusă în stările de acidoză cronică, permițând o creștere a producției de amoniac și, prin urmare, o creștere a excreției ionilor de hidrogen prin intermediul ionilor de amoniu (NH_4^+). Amoniacul difuzează ușor prin membranele celulare, spre deosebire de ionii de amoniu, formați în cursul reacției de tamponare a ionilor de hidrogen de către amoniac (Ecuația 4). Reabsorbția pasivă a ionilor de amoniu este deci împiedicată.



(Ecuația 4) $$NH_3 + H^+ \leftrightarrows NH_4^+$$

La concentrații intracelulare normale în ioni de hidrogen, cea mai mare parte a amoniacului este prezent sub formă de ioni amoniu. Difuzia amoniacului în afara celulelor perturbă echilibrul, antrenând prin urmare formarea unor cantități și mai importante de amoniac. Producerea simultană de ioni de hidrogen ar putea contracara acest fenomen. Totuși, acești ioni sunt utilizați în neoglucogeneză, atunci când se combină cu glutamatul format prin dezaminarea glutaminei. Excreția urinară a ionilor de hidrogen este rezumată în figura II.2.

Este evident faptul că ionii de hidrogen și bicarbonatul sunt produși în cantități echimolare în celulele tubulare renale. Acest lucru este esențial pentru reabsorbția bicarbonatului filtrat, ceea ce înseamnă că pentru fiecare ion de hidrogen excretat în urină este produs și reținut un ion bicarbonat. Acest proces permite o regenerare eficientă a ionilor bicarbonat consumați în reacțiile de tamponare a ionilor de hidrogen.

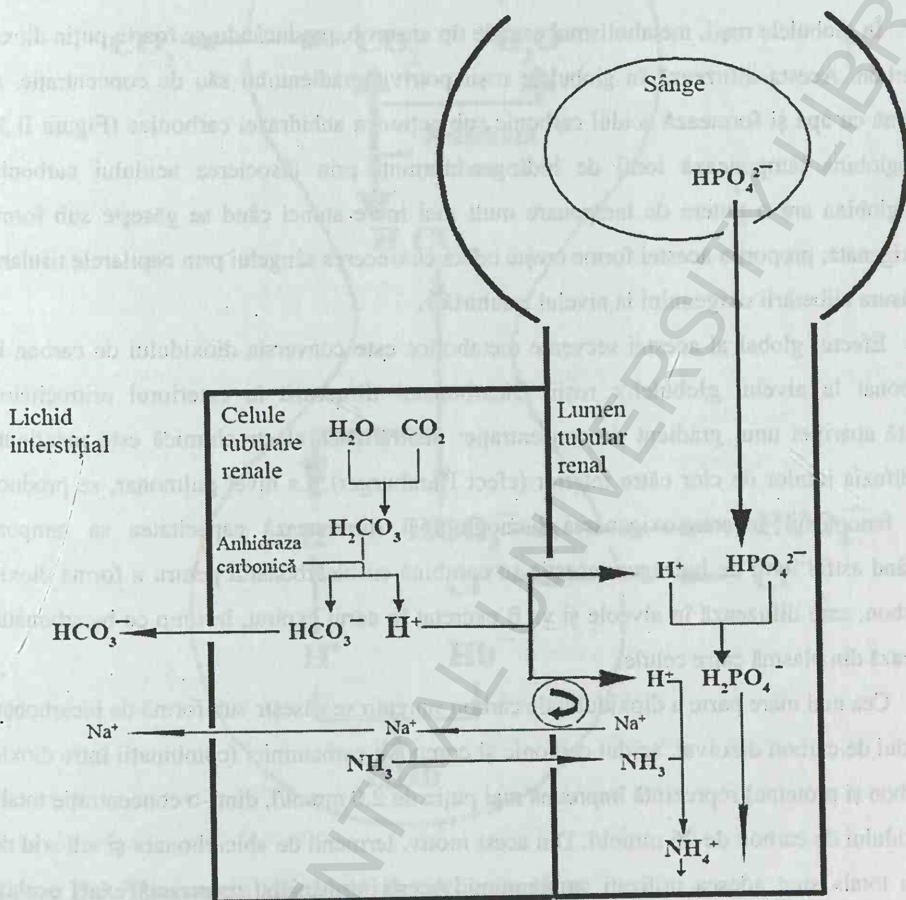


Figura II.2. Excreția renală a ionilor de hidrogen

Ionii de hidrogen şi bicarbonatul sunt generați în celulele tubulare renale pornind de la dioxid de carbon şi apă, prin reversibilitatea reacției tampon. Ionii de hidrogen sunt excretați în urină şi tamponați de către fosfați şi amoniac, în timp ce bicarbonatul trece în LEC, înlocuindu-l pe cel consumat în reacția tampon.

Transportul dioxidului de carbon

Dioxidul de carbon, produs în metabolismul aerob, difuzează în afara celulelor către lichidul extracelular (LEC). O mică parte se combină cu apa pentru a forma acidul carbonic, crescând astfel concentraţia ionilor de hidrogen din LEC.

În globulele roşii, metabolismul este de tip anaerob, producându-se foarte puţin dioxid de carbon. Acesta difuzează în globulele roşii potrivit gradientului său de concentraţie, se combină cu apa şi formează acidul carbonic sub acţiunea anhidrazei carbonice (Figura II.3). Hemoglobina tamponează ionii de hidrogen formaţi prin disocierea acidului carbonic. Hemoglobina are o putere de tamponare mult mai mare atunci când se găseşte sub forma dezoxigenată; proporţia acestei forme creşte odată cu trecerea sângelui prin capilarele tisulare, pe măsura eliberării oxigenului la nivelul ţesuturilor.

Efectul global al acestei secvenţe metabolice este conversia dioxidului de carbon în bicarbonat la nivelul globulelor roşii. Bicarbonatul difuzează la exteriorul eritrocitelor, datorită apariţiei unui gradient de concentraţie: neutralitatea electrochimică este menţinută prin difuzia ionilor de clor către interior (efect Hamburger). La nivel pulmonar, se produce exact fenomenul invers: oxigenarea hemoglobinei diminuează capacitatea sa tampon, eliberând astfel ionii de hidrogen; aceştia se combină cu bicarbonatul pentru a forma dioxid de carbon, care difuzează în alveole şi va fi excretat în aerul expirat, în timp ce bicarbonatul difuzează din plasmă către celule.

Cea mai mare parte a dioxidului de carbon sanguin se găseşte sub formă de bicarbonat. Dioxidul de carbon dizolvat, acidul carbonic şi compuşii carbaminici (combinaţii între dioxid de carbon şi proteine) reprezintă împreună mai puţin de 2,0 mmol/l, dintr-o concentraţie totală a dioxidului de carbon de 26 mmol/l. Din acest motiv, termenii de «bicarbonat» şi «dioxid de carbon total» sunt adesea utilizaţi ca sinonimi. Aceşti termeni nu reprezintă exact acelaşi lucru, însă pot fi consideraţi ca echivalenţi în cea mai mare parte a situaţiilor clinice practice. Din punct de vedere tehnic, este dificilă măsurarea concentraţiei bicarbonatului într-o manieră izolată: majoritatea metodelor disponibile evaluează de fapt dioxidul de carbon total.

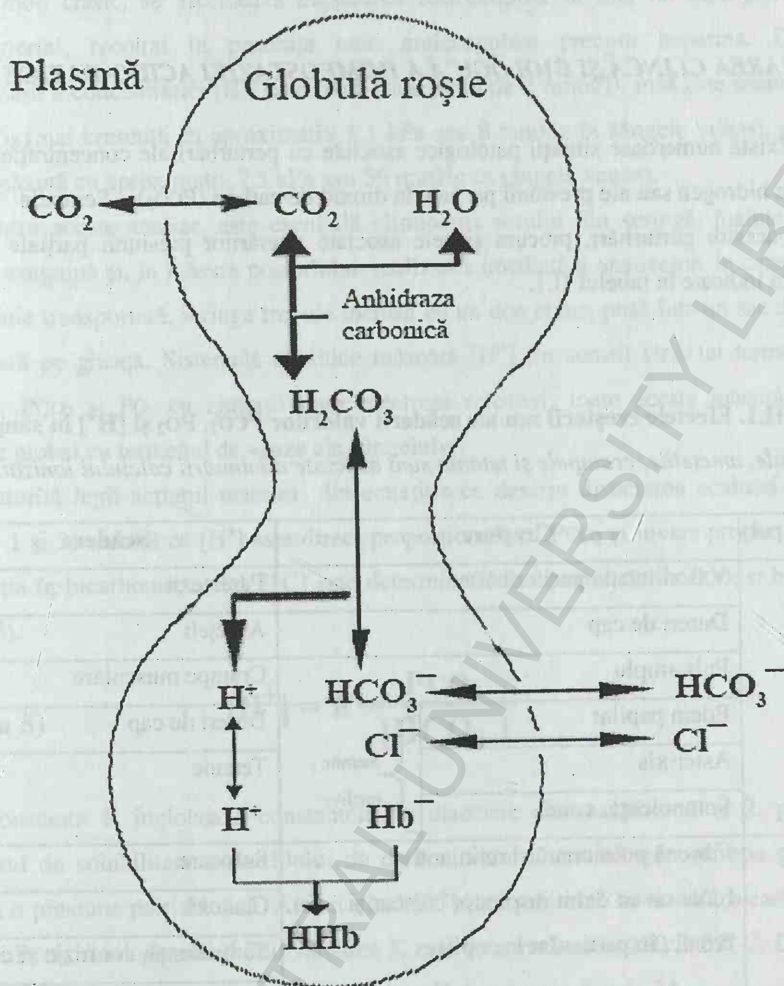


Figura II.3. Transportul dioxidului de carbon în sânge

La nivelul capilarelor, dioxidul de carbon difuzează în globulele roșii și se combină cu apa pentru a forma acidul carbonic; reacția este catalizată de anhidraza carbonică. Acidul carbonic disociază formând ioni de hidrogen, care sunt tamponați de către hemoglobină și de către bicarbonat, ce difuzează către exteriorul celulei; ionii de clor difuzează spre interior pentru a menține neutralitatea electrochimică. La nivelul alveolelor pulmonare se produce fenomenul invers; dioxidul de carbon este produs pornind de la bicarbonat și este eliminat în aerul expirat.

EVALUAREA CLINCĂ ŞI BIOLOGICĂ A HOMEOSTAZIEI ACIDO-BAZICE

Există numeroase situaţii patologice asociate cu perturbări ale concentraţiei sanguine în ioni de hidrogen sau ale presiunii parţiale în dioxid de carbon (P_{CO_2}). Semnele clinice asociate acestor perturbări, precum şi cele asociate alterărilor presiunii parţiale în oxigen (P_{O_2}) sunt indicate în tabelul II.1.

Tabelul II.1. Efectele creşterii sau ale scăderii valorilor P_{CO_2}, P_{O_2} şi $[H^+]$ în sânge

Paresteziile, ameţelile, crampele şi tetania sunt asociate diminuării calciului ionizat.

Parametrul	Creştere		Scădere
P_{CO_2}	Vasodilataţie periferică		Parestezii
	Dureri de cap		Ameţeli
	Puls amplu		Crampe musculare
	Edem papilar	Semne tardive	Dureri de cap
	Asterixis		Tetanie
	Somnolenţă, comă		
P_{O_2}	Fibroză pulmonară şi retiniană (doar cu un debit inspirator crescut şi cronic, în particular la copii)		Sufocare
			Cianoză
			Somnolenţă, confuzie şi comă
			Hipotensiune pulmonară (în hipoxemia cronică)
$[H^+]$	Hiperventilaţie		Hipoventilaţie
	Creşterea eliberării de catecolamine		Parestezii
	Hiperkaliemie		Crampe musculare
	Diminuarea contractilităţii miocardice	Doar în cazul Acidozelor severe	Ameţeli
	Depresia sistemului nervos central (SNC)		Dureri de cap
			Tetanie
			Somnolenţă, confuzie şi comă

În mod clasic, se efectuează măsurarea concentrației în ioni de hidrogen [H^+] în sângele arterial, recoltat în prezența unui anticoagulant precum heparina. Diferența arteriovenoasă a concentrației [H^+] este mică (mai puțin de 2 nmol/l), însă este semnificativă pentru PCO_2 (mai crescută cu aproximativ 1,1 kPa sau 8 mmHg în sângele venos), și pentru PO_2 (mai scăzută cu aproximativ 7,5 kPa sau 56 mmHg în sângele venos).

Pentru aceste analize, este esențială eliminarea aerului din seringă, înainte și după recoltarea sanguină și, în măsura posibilului, realizarea imediată a analizelor. În cazul în care proba trebuie transportată, seringa trebuie închisă cu un dop etanș, pusă într-un sac de plastic și menținută pe gheață. Sistemele analitice măsoară [H^+] (în sensul strict al termenului, o activitate), PCO_2 și PO_2 cu ajutorul unor electrozi selectivi; toate aceste măsurători sunt desemnate global cu termenul de «gaze ale sângelui».

Datorită legii acțiunii maselor, din ecuațiile ce descriu disocierea acidului carbonic (Ecuațiile 1 și 2) rezultă că [H^+] este direct proporțională cu PCO_2 și invers proporțională cu concentrația în bicarbonat; astfel, [H^+] este determinată de raportul dintre PCO_2 și bicarbonat (Ecuația 5).

(Ecuația 5)

$$[H^+] = K \frac{PCO_2}{[HCO_3^-]}$$

Constanta K înglobează constantele de disociere ale reacțiilor 1 și 2, precum și coeficientul de solubilitate a dioxidului de carbon, care determină concentrația gazului în soluție la o presiune parțială dată. Atunci când [H^+] este măsurată în nmol/l, bicarbonatul în mmol/l și PCO_2 în kilopascali (kPa), valoarea K este de aproximativ 180 la 37° C. Dacă PCO_2 este măsurată în milimetri coloană de mercur (mmHg), valoarea K este 24.

Prin urmare, este posibil să se determine concentrația în bicarbonat, pornind doar de la valorile [H^+] și PCO_2.

În analizoarele automate ale gazelor sângelui, concentrația în bicarbonat nu este măsurată, ci este obținută prin calcul. Valoarea obținută nu este egală cu cea a concentrației bicarbonatului (în sensul strict al termenului, a concentrației dioxidului de carbon total) măsurată cu ajutorul analizoarelor automate de biochimie. Această modalitate de a determina concentrația în bicarbonat a suscitat numeroase dezbateri, având în vedere că valorile constantelor implicate au fost obținute pornind de la soluții presupuse ideale, ceea ce lichidele biologice nu sunt. Cu toate acestea, în practică, calculul rămâne valabil pentru cea mai mare parte a cazurilor.

Cunoaşterea relaţiei care uneşte concentraţia ionilor de hidrogen, concentraţia în bicarbonat şi P_{CO_2} este de o importanţă capitală pentru înţelegerea fiziopatologiei homeostaziei acido-bazice.

Din ecuaţia 5 rezultă faptul că relaţia dintre $[H^+]$ şi P_{CO_2}, sau cea între bicarbonat şi P_{CO_2}, sunt lineare. Aceste relaţii au fost cuantificate prin determinări *in vivo*, fiind posibilă prin urmare anticiparea efectului modificării unei variabile asupra celeilalte, cum ar fi de exemplu efectul unei creşteri acute a P_{CO_2} asupra $[H^+]$. Acest lucru contribuie la interpretarea tulburărilor echilibrului acido-bazic.

Relaţiile între $[H^+]$, P_{CO_2} şi concentraţia în bicarbonat sunt reprezentate în figura II.4. Această diagramă reprezintă un mijloc util în interpretarea bilanţurilor acido-bazice, însă nu permite abordarea în totalitate a mecanismelor subiacente.

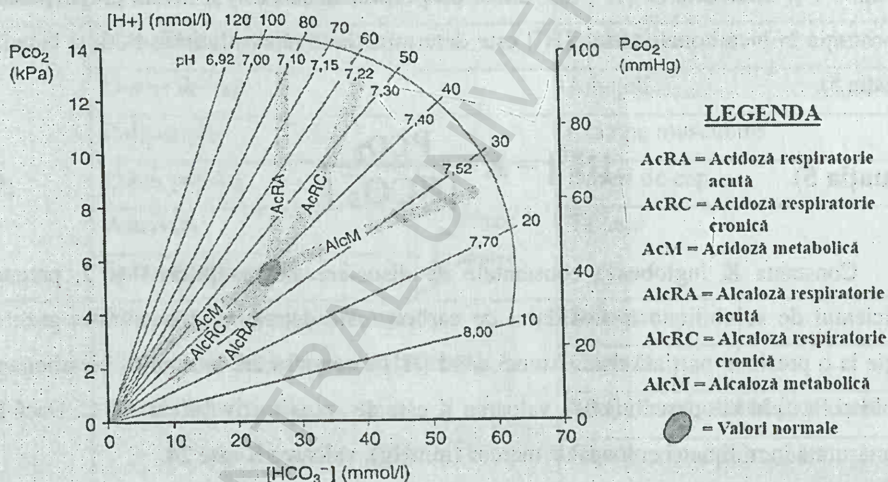


Figura II.4. Relaţia între P_{CO_2}, concentraţia în ioni de hidrogen şi concentraţia în bicarbonat

Zonele închise reprezintă domenii de valori corespunzătoare unor perturbări simple ale homeostaziei acido-bazice. Rezultatele din afara acestor zone corespund unor tulburări de natură mixtă.

DEZECHILIBRE ALE HOMEOSTAZIEI ACIDO-BAZICE

Fiziopatologia tulburărilor homeostaziei acido-bazice poate fi descompusă în patru etape:

- faza de instalare;
- faza de intervenție a sistemelor tampon;
- faza de compensație;
- faza de corecție.

Cu toate că este mai simplu să le considerăm separat, în realitate aceste etape survin aproape simultan, deși au profiluri de evoluție diferite.

Dereglările acido-bazice sunt calificate drept **respiratorii** sau non-respiratorii **(metabolice)**, în funcție de existența sau nu a unei modificări primare (cauzale) a PCO_2.

Termenul **«acidoză»** corespunde unei tendințe a concentrației $[H^+]$ de a fi superioară normalei, în timp ce termenul **«alcaloză »** definește concentrații $[H^+]$ inferioare normalei.

Dezechilibrele acido-bazice mixte primare, de origine respiratorie și non-respiratorie, sunt frecvente. Răspunsurile secundare sau compensatorii la o perturbare primară a homeostaziei acido-bazice pot însă determina profiluri dificil de diferențiat față de cele ale dezechilibrelor mixte.

Acidoze metabolice (non respiratorii)

Într-o acidoză metabolică, anomalia primară poate consta fie în creșterea producției, fie în diminuarea excreției ionilor de hidrogen. În unele cazuri, cele două mecanisme sunt asociate. Pierderea de bicarbonat poate de asemenea, în mod indirect, să provoace o acidoză.

Cauzele acidozei metabolice pot fi următoarele:

- **Creșterea formării ionilor de hidrogen**
  - Acidocetoza (în general diabetică, dar poate fi și alcoolică);
  - Acidoza lactică;
  - Intoxicații (etanol, metanol, etilenglicol, compuși salicilați);
  - Acidurie organică.
- **Ingestia de acid**
  - Otrăvire cu un acid;
  - Aport parenteral excesiv de aminoacizi (arginină, lizină, histidină).

➢ **Diminuarea excreției ionilor de hidrogen**

– Acidoze tubulare renale;
– Insuficiență renală globală;
– Inhibitori ai anhidrazei carbonice.

➢ **Pierderea de bicarbonat**

– Diaree;
– Fistule sau drenaj pancreatic, intestinal sau biliar.

Ionii de hidrogen în exces sunt tamponați de către bicarbonat (Ecuația 2) și de către alte sisteme tampon. Acidul carbonic care se formează subsecvent se disociază (Ecuația 1), iar dioxidul de carbon format este eliminat în aerul expirat. Această reacție tampon limitează creșterea potențială a ionilor de hidrogen, cu prețul unei diminuări a concentrației în bicarbonat.

Compensația se face prin hiperventilație, care are rolul de a crește eliminarea dioxidului de carbon și de a diminua presiunea parțială PCO_2. Raportul PCO_2 / $[HCO3^-]$ este diminuat, ceea ce tinde a diminua și concentrația $[H^+]$ (Ecuația 5).

Hiperventilația este consecința directă a creșterii $[H^+]$, care stimulează centrii respiratori. Compensația respiratorie este incapabilă să normalizeze complet $[H^+]$, în măsura în care creșterea concentrației ei însăși este cea care conduce la hiperventilația compensatorie. În plus, creșterea activității mușchilor respiratori produce și ea dioxid de carbon, care diminuează astfel posibilitățile de diminuare a PCO_2.

Atunci când cauza acidozei nu este corectată, poate fi atinsă o nouă stare stabilă, asociată cu o creștere a $[H^+]$ și o scădere a bicarbonaților și PCO_2. În această stare stabilă, diminuarea PCO_2 datorată compensației respiratorii este de aproximativ 0,17 kPa (1,33 mmHg) pentru fiecare palier de diminuare cu 1 mmol/l a concentrației în bicarbonat. Eficacitatea compensației respiratorii este de asemenea limitată în cazul unor afecțiuni ale funcției respiratorii. Însă chiar cu o funcție respiratorie normală, este foarte rar să se observe o PCO_2 mai mică de 1,5 kPa (11,3 mmHg), oricât de severă ar fi acidoza metabolică.

La un individ sănătos, hiperventilația ar determina o alcaloză respiratorie.

În general, mecanismul de compensare a oricărei tulburări acido-bazice implică instalarea unei perturbări secundare de natură opusă.

În cazul unei acidoze metabolice, compensația se realizează prin crearea unei alcaloze respiratorii, chiar dacă aceasta nu face decât să limiteze severitatea acidozei; pacientul nu

dezvoltă efectiv o alcaloză. În cazul unei acidoze respiratorii, compensaţia implică crearea unei alcaloze metabolice.

Dacă funcţia renală a unui pacient cu acidoză metabolică este normală, ionii de hidrogen în exces pot fi excretaţi de către rinichi. Cu toate acestea, în numeroase cazuri există o alterare a funcţiei renale, care în general nu este cauza primară a acidozei.

Corijarea completă a unei acidoze metabolice presupune tratamentul cauzei subiacente, spre exemplu rehidratarea şi insulinoterapia în cazul acidocetozei diabetice, sau eliminarea compuşilor salicilaţi în cazul intoxicaţiei corespunzătoare. Este importantă păstrarea perfuziei renale în scopul de a favoriza excreţia ionilor de hidrogen. Este de asemenea posibilă utilizarea bicarbonaţilor exogeni pentru tamponarea ionilor de hidrogen.

Creşterea producţiei ionilor de hidrogen

Este vorba de mecanismul fiziopatologic implicat în acidocetoze (diabetice sau alcoolice), în acidoza lactică şi în acidoza survenind în intoxicaţii, ca de exemplu cele cu compuşi salicilaţi sau etilenglicol.

Diminuarea excreţiei ionilor de hidrogen

Acidoza poate surveni în insuficienţa renală glomerulară, în care diminuarea filtrării glomerulare provoacă diminuarea cantităţii de sodiu filtrat care devine disponibil pentru schimbul cu ionii de hidrogen. Deopotrivă, diminuează şi cantitatea de fosfat filtrat şi disponibil pentru reacţii tampon.

Pierderea de bicarbonat

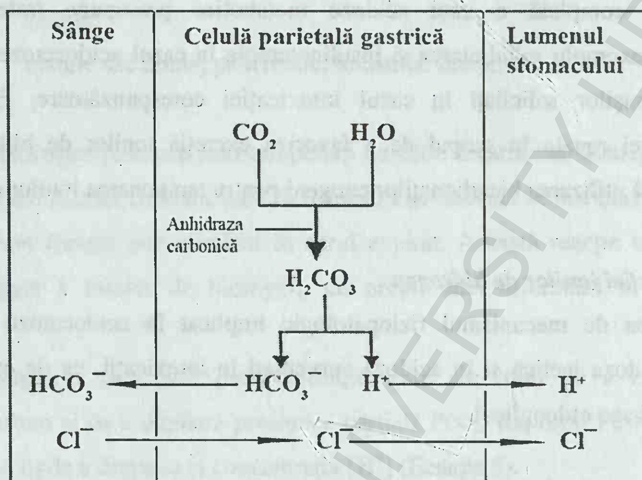
Pierderea de bicarbonat şi retenţia ionilor de hidrogen pot provoca o acidoză la pacienţii la care au loc pierderi de secreţii alcaline la nivelul intestinului subţire (de exemplu datorită unei fistule).

În stomac, bicarbonatul generat pornind de la dioxid de carbon şi apă este reţinut, ionii de hidrogen fiind secretaţi în lumenul stomacal (Figura II.5a).

În pancreas şi în intestinul subţire, mişcările bicarbonatului şi ale ionilor de hidrogen se fac în direcţii opuse (Figura II.5b); din acest motiv, ionii de hidrogen secretaţi în lumenul stomacal sunt neutralizaţi de către bicarbonat la nivelul intestinului subţire.

În condiţii fiziologice şi în măsura în care cea mai mare parte a lichidului şi a ionilor secretaţi la nivelul tubului digestiv sunt reabsorbiţi, tubul digestiv reprezintă un sistem închis în raport cu homeostazia acido-bazică. Totuşi, în cazul unei pierderi de secreţii alcaline, există

riscul de a dezvolta o acidoză. Creşterea excreţiei renale a ionilor de hidrogen (cu generarea şi retenţia bicarbonatului) poate împiedica această acidoză, însă o pierdere excesivă de lichid la nivel intestinal poate afecta lichidul extracelular (LEC) în aşa măsură încât debitul de filtrare glomerulară să diminueze, iar rinichii să nu mai fie în măsură să compenseze dereglarea indusă.



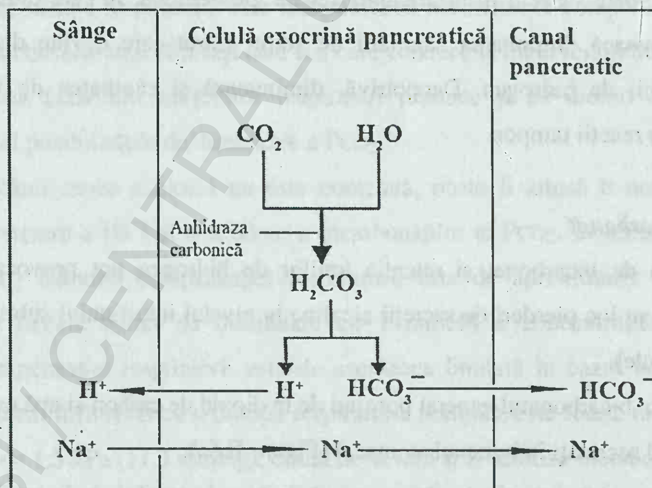


Figura II.5. Formarea secreţiei acide gastrice (a) şi a secreţiei alcaline pancreatice (b)

Ionii de hidrogen şi bicarbonat se formează pornind de la dioxid de carbon şi apă, sub acţiunea anhidrazei carbonice. În stomac, ionii de hidrogen sunt secretaţi, iar bicarbonatul este reţinut. La nivelul pancreasului se produce fenomenul invers.

Deficitul anionic (Gaura anionică)

Într-o acidoză metabolică, atunci când concentraţia în bicarbonat diminuează, neutralitatea electrochimică trebuie să fie menţinută de către ceilalţi anioni.

În numeroase cazuri, anionii sunt produşi în acelaşi timp cu ionii de hidrogen şi în cantităţi echivalente, ca de exemplu acetoacetatul şi β-hidroxibutiratul în acidocetoza diabetică, sau lactatul în acidoza lactică. În celelalte situaţii, deficitul este compensat de către ionii de clor.

Diferenţa între suma concentraţiilor principalilor cationi (sodiu şi potasiu) şi cea a principalilor anioni (clor şi bicarbonat) poartă denumirea de deficit anionic sau gaură anionică (Ecuaţia 6).

(Ecuaţia 6) $$\text{Deficit anionic} = ([Na^+] + [K^+]) - ([Cl^-] + [HCO_3^-])$$

La un individ sănătos, deficitul anionic are o valoare de 14-18 mmol/l, reprezentând în principal sarcina negativă netă nemăsurată a proteinelor plasmatice.

În acidozele caracterizate printr-o creştere a altor anioni decât clorul, deficitul anionic este crescut. Opus, într-o acidoză datorată unei pierderi de bicarbonat, de exemplu în acidoza tubulară renală, concentraţia plasmatică a clorului este crescută, deficitul anionic fiind normal. Prin urmare, a fost sugerat faptul că deficitul anionic ar putea contribui la diagnosticarea acidozei. Cu toate acestea, în majoritatea situaţiilor de acidoză, etiologia este evidentă din punct de vedere clinic şi poate fi confirmată prin rezultatele unor analize simple. Deficitul anionic poate fi util în analiza tulburărilor acido-bazice complexe, însă unele laboratoare nu includ dozarea clorului în bilanţul electrolitic de rutină, astfel încât în aceste condiţii deficitul anionic nu poate fi calculat.

Profilul biochimic sangvin caracteristic pentru acidoza metabolică poate fi rezumat în felul următor:

Acidoză metabolică	
$[H^+]$	↑
pH	↓
P_{CO_2}	↓
$[HCO_3^-]$	↓↓

Diminuarea P_{CO_2} este un mecanism de compensaţie; scăderea P_{CO_2} este aproximativ de 0,17 kPa (1,3 mmHg) pentru fiecare diminuare a concentraţiei bicarbonatului cu 1 mmol.

Monitorizarea acidozelor metabolice

Monitorizarea unei acidoze metabolice trebuie să fie dirijată în totalitate către rezolvarea problemei conexe. Atunci când acest lucru nu este posibil imediat, poate fi administrat bicarbonat pentru tamponarea ionilor de hidrogen, cu toate că nu toţi medicii sunt de acord pe acest subiect. Unii medici consideră prudentă administrarea bicarbonatului atunci când concentraţia arterială în ioni de hidrogen $[H^+]$ este mai mare de 100 mmol/l (pH < 7) şi doar dacă nu există în acel moment o altă modalitate de intervenţie, mai ales atunci când situaţia clinică a pacientului este deteriorată. Totuşi, atunci când trebuie utilizat bicarbonat, acesta trebuie administrat în cantităţi mici, evaluând incidenţa asupra concentraţiei arteriale $[H^+]$. Administrarea rapidă şi în cantităţi mari a bicarbonatului în scopul de a corecta o acidoză poate fi deosebit de periculoasă.

Acidoze respiratorii

Printre numeroasele situaţii clinice asociate cu dezvoltarea unei acidoze respiratorii câteva exemple pot fi sintetizate în felul următor:

- **Obstrucţia căilor aeriene**
  - Boală cronică obstructivă respiratorie (bronşită, emfizem);
  - Bronhospasm, ca de exemplu în astm;
  - Aspirarea unui corp străin.
- **Depresia centrului respirator**
  - Anestezice;
  - Sedative;
  - Traumatism cerebral;
  - Tumori.
- **Maladii neuromusculare**
  - Poliomielită;
  - Sindromul Guillain-Barré;
  - Maladii neuromotorii;
  - Tetanos, botulism;
  - Neurotoxine, curare.
- **Maladii pulmonare**
  - Fibroză pulmonară;
  - Pneumonie severă;

– Sindrom de depresie respiratorie.

➢ **Afecțiuni toracice extrapulmonare**

– Volet costal;

– Cifoscolioză severă;

Toate aceste situații sunt caracterizate printr-o creștere a presiunii parțiale P_{CO_2}. Pentru fiecare ion de hidrogen produs, este generat un ion bicarbonat.

Majoritatea ionilor de hidrogen sunt tamponați de către tampoane intracelulare, în special de către hemoglobină (Figura II.3).

În cazul unei creșteri acute a P_{CO_2}, fiecare palier de 1 kPa (7,5 mmHg) este asociat unei creșteri concomitente a concentrației în bicarbonat cu mai puțin de 1 mmol/l, precum și unei creșteri a $[H^+]$ de aproximativ 5,5 nmol/l.

În cazul insuficienței respiratorii cronice, atunci când compensația renală este la nivelul său maxim, $[H^+]$ este crescută cu doar 2,5 nmol/l pentru fiecare palier de creștere cu 1 kPa (7,5 mmHg) a P_{CO_2}, în timp ce concentrația în bicarbonat crește cu 2-3 mmol/l.

O acidoză respiratorie nu poate fi corectată decât prin mecanismele care readuc P_{CO_2} la normal, însă dacă o valoare crescută a P_{CO_2} persistă, compensația necesită creșterea excreției renale a ionilor de hidrogen.

În acidoza respiratorie acută, cu excepția cazurilor foarte severe, concentrația în bicarbonat, deși crescută, rămâne în general în intervalul de referință. Dacă există o creștere semnificativă a concentrației în bicarbonat într-o acidoză respiratorie, trebuie avută în vedere fie o evoluție cronică asociată cu o compensație renală, fie asocierea unei alcaloze metabolice. O concentrație scăzută în bicarbonat sugerează coexistența unei acidoze metabolice.

Monitorizarea acidozelor respiratorii

În acidoza respiratorie, obiectivul tratamentului este ameliorarea ventilației alveolare și scăderea P_{CO_2}. Cu toate acestea, în hipoventilația alveolară acută, apare în general mai curând hipoxemia (scăderea concentrației de dioxid de carbon în sânge) decât hipercapnia (creșterea concentrației de dioxid de carbon în sânge). Hipoxemia este cea care determină prognosticul vital, cu excepția cazului în care este menținută P_{O_2} printr-un aport adecvat de oxigen. Dacă ventilația încetează brutal, moartea prin hipoxemie intervine în următoarele 4 minute; comparativ, evoluția P_{CO_2} este de asemenea natură încât ar fi necesar mai mult de 10 minute pentru ca să se atingă un nivel letal.

În acidoza respiratorie cronică, posibilitatea de a corecta cauza subiacentă este foarte rară, tratamentul fiind orientat spre optimizarea ventilației alveolare, cu utilizarea de exemplu a kineziterapiei, a bronhodilatatorilor şi a antibioticelor. Dacă este necesară ventilația artificială, este indispensabilă urmărirea evoluției gazelor sângelui şi a concentrației în ioni de hidrogen a pacientului, în scopul evitării unei supracorecţii a acidozei respiratorii.

La pacienții cu insuficiență respiratorie acută, pot fi utilizate cu toată siguranța proporții relativ importante de oxigen. În schimb, la mulți pacienți cu insuficiență respiratorie cronică, centrul respirator dezvoltă o insensibilitate la dioxidul de carbon, hipoxemia rămânând principalul stimul al respirației. Administrarea oxigenului la aceşti pacienți trebuie să fie controlată cu atenție, pentru a evita abolirea acestui stimul.

Este important să se înțeleagă faptul că, pe baza doar a rezultatelor biochimice, este imposibilă diferențierea diagnostică între starea de compensație a unei insuficiențe respiratorii cronice pe de o parte, şi insuficiența respiratorie acută dezvoltată la un pacient prezentând o alcaloză metabolică preexistentă, pe de altă parte. Monitorizarea şi tratamentul celor două situații nu sunt deloc aceleaşi.

Profilurile biochimice caracteristice sângelui arterial în acidozele respiratorii acute şi cronice pot fi rezumate în felul următor:

	Acidoză respiratorie	
	Acută	**Cronică**
$[H^+]$	↑	↑ moderat sau la limita superioară a valorii normale
pH	↓	↓ moderat sau la limita inferioară a valorii normale
PCO_2	↑	↑
$[HCO_3^-]$	↑ moderat	↑

Alcaloze metabolice (non respiratorii)

Alcaloza metabolică se caracterizează în primul rând printr-o creştere inițială a concentrației bicarbonatului din lichidul extracelular (LEC), cu diminuarea în consecință a concentrației ionilor de hidrogen $[H^+]$ (Ecuația 5).

La un individ normal, creşterea concentrației plasmatice a bicarbonatului provoacă diminuarea reabsorbției tubulare renale şi excreția bicarbonatului în urină. Pentru a determina o alcaloză semnificativă, trebuie ingerate cantități masive de bicarbonat.

Având în vedere că organismul este mai ales un producător de sarcini acide, ne-am putea aştepta ca o alcaloză metabolică să fie corectată de către producţia acidă normală. În practică, şi contrar cazurilor de acidoză metabolică sau tulburărilor respiratorii ale balanţei acido-bazice, o alcaloză metabolică poate persista chiar şi după corectarea anomaliei primare. Prin urmare, este necesară evidenţierea mecanismelor susceptibile de a produce o alcaloză metabolică, dar şi a celor care o perpetuează.

Cauzele acidozei metabolice pot fi următoarele :

➢ **Pierderea necompensată de ioni de hidrogen**

- Pierdere gastro-intestinală
  - aspiraţie gastrică;
  - vomitări cu stenoză de pilor;
  - diaree clorată congenitală;
- Pierdere renală
  - supraîncărcare cu mineralocorticoizi (Sindromul Cushing, Sindromul Conn);
  - medicamente cu activitate mineralocorticoidă (Carbenoxolona);
  - diuretice (care nu discriminează K^+);
  - corecţia rapidă a creşterii cronice a P_{CO_2};
  - depleţie potasică.

➢ **Administrarea de substanţe alcaline**

- Tratament inadecvat al stărilor de acidoză;
- Ingestie cronică de substanţe alcaline.

O supraîncărcare alcalină nu determină decât o alcaloză tranzitorie, cu excepţia situaţiei în care alţi factori suplimentari permit menţinerea alcalozei respective.

Pierderea disproporţionată a clorului, ca de exemplu în drenajul unui edem sub efectul unui tratament diuretic, în condiţiile în care excreţia urinară de bicarbonat este scăzută, poate determina o alcaloză metabolică, însă perturbarea este întotdeauna moderată dacă nu intervine decât acest mecanism.

Menţinerea unei alcaloze metabolice presupune o reabsorbţie renală crescută şi inadecvată a bicarbonatului, în condiţiile implicării deopotrivă a homeostaziei ionilor de hidrogen. Factorii potenţial responsabili sunt diminuarea volumului LEC, supraîncărcarea cu mineralocorticoizi, sau depleţia potasică.

În hipovolemie, are loc o creştere a stimulilor de reabsorbţie renală de sodiu, care depinde de disponibilitatea anionilor adecvaţi. Dacă există un deficit relativ în cloruri, cum este cazul în pierderile de lichid gastric sau în tratamentul cu anumite diuretice, neutralitatea electrochimică în cursul reabsorbţiei sodiului este menţinută prin creşterea reabsorbţiei bicarbonatului, şi prin excreţia ionilor de hidrogen şi potasiu.

În cazul supraîncărcărilor cu mineralocorticoizi, alcaloza este perpetuată prin creşterea excreţiei urinare a ionilor de hidrogen, care survine în urma unei creşteri a reabsorbţiei sodiului.

Corectarea unei alcaloze metabolice implică tratamentul cauzei primare şi a mecanismului responsabil de perpetuarea afecţiunii. Mecanismul compensator aşteptat corespunde unei creşteri a PCO_2, determinând creşterea raportului PCO_2 / $[HCO3^-]$, şi prin urmare creşterea $[H^+]$ (Ecuaţia 5).

O concentraţie arterială scăzută a ionilor de hidrogen $[H^+]$ inhibă centrul respirator, provocând o hipoventilaţie, şi deci o creştere a PCO_2. Totuşi, de vreme ce creşterea PCO_2 este ea însăşi un important stimul al respiraţiei, această compensaţie prezintă o autolimitare, mai ales în acidozele metabolice cronice.

În cea mai mare parte a dereglărilor cronice, poate apărea o compensaţie semnificativă, cel mai probabil datorită faptului că centrul respirator devine mai puţin sensibil la dioxidul de carbon. Cu toate aceastea, în cazul în care hipoventilaţia ar provoca o hipoxemie semnificativă, aceasta din urmă ar determina o puternică stimulare a respiraţiei, împiedicând astfel orice compensaţie suplimentară.

O alcaloză metabolică datorită pierderii de lichid acid gastric poate interveni la pacienţii care au suportat o aspiraţie nazogastrică. În general nu apar vărsături dacă pilorul este funcţional, în măsura în care pierderea suplimentară de secreţii alcaline la nivelul porţiunii superioare a intestinului subţire contrabalansează efectul retenţiei ionilor bicarbonat determinat de către celulele parietale gastrice. În cazul stenozei pilorice, vărsăturile sunt o cauză destul de puţin frecventă a alcalozei metabolice, însă perturbările asociate pot fi severe; celelalte cauze nu provoacă în mod general un asemenea grad de severitate.

Monitorizarea alcalozelor metabolice

Supravegherea unei alcaloze metabolice depinde de severitatea afecţiunii şi de cauza subiacentă. Atunci când există o hipovolemie şi o hipocloremie, cele două anomalii pot fi corectate simultan printr-o perfuzie de soluţie izotonică de clorură de sodiu (ser fiziologic), care ameliorează în acelaşi timp perfuzia renală şi permite excreţia sarcinii în bicarbonat. În

aceste situații, este frecventă asocierea unui supliment potasic, chiar dacă acesta nu este întotdeauna necesar. Cazurile care necesită corectarea în urgență a unei alcaloze metabolice prin administrarea de clorură de amoniu sunt excepționale.

Alcaloza moderată, adesea asociată unei depleții potasice induse de exemplu printr-un diuretic, necesită rareori un tratament specific, chiar dacă trebuie corectată hipokaliemia.

Caracteristicile biochimice ale alcalozei metabolice pot fi rezumate astfel:

Alcaloză metabolică	
$[H^+]$	↓
pH	↑
P_{CO_2}	↑
$[HCO_3^-]$	↑↑

Alcaloze respiratorii

Principalele cauze de alcaloză respiratorie sunt următoarele:

- **Hipoxia**
  - Altitudine înaltă;
  - Anemie severă;
  - Maladie pulmonară.
- **Creşterea frecvenței respiratorii**
  - Stimulanți respiratorii, ca de exemplu salicilați;
  - Afecțiuni cerebrale, ca de exemplu traumatisme, infecții sau tumori;
  - Insuficiență hepatică;
  - Septicemie cu bacterii Gram-negative;
  - Sindrom de hiperventilație primară;
  - Hiperventilație voluntară.
- **Afecțiuni pulmonare**
  - Edem pulmonar;
  - Embolie pulmonară;
- **Hiperventilație mecanică**

Toate aceste situații prezintă o caracteristică comună, ce reprezintă de altfel cauza concretă a alcalozei, și anume diminuarea PCO_2 și implicit a raportului PCO_2 / [$HCO3^-$] (Ecuația 5). În alcaloza respiratorie acută, concentrația [H^+] diminuează cu aproximativ 5,5 nmol/l pentru fiecare palier de diminuare a PCO_2 cu 1,0 kPa (7,5 mmHg).

Scăderea PCO_2 provoacă o ușoară diminuare a concentrației plasmatice de bicarbonat. Compensația implică diminuarea excreției renale a ionilor de hidrogen, care determină implicit o diminuare a concentrației plasmatice de bicarbonat. În alcaloza respiratorie, compensația renală se realizează mai lent decât în cazul acidozei respiratorii. Dacă este menținut un platou de PCO_2, apare o compensație maximă, ce determină o nouă stare stabilă, care se dezvoltă între 36 și 72 de ore.

Monitorizarea alcalozelor respiratorii

Ca și în cazul celorlalte perturbări ale homeostaziei acido-bazice, supravegherea pacienților cu alcaloză respiratorie trebuie să fie orientată către cauza adiacentă, chiar dacă adesea acest lucru este imposibil. Din fericire, o alcaloză respiratorie cronică compensată nu este periculoasă. Creșterea PCO_2 din aerul inspirat, cerând pacientului să inspire într-un sac de hârtie, poate suprima manifestările clinice de hipocapnie acută în situațiile de hiperventilație acută. Aceasta este doar o măsură temporară, care prezintă propriul risc de hipoxie.

Manifestările biochimice ale alcalozelor respiratorii pot fi rezumate astfel:

Alcaloză respiratorie		
	Acută	**Cronică**
[H^+]	↓	↓ moderat sau la limita inferioară a valorii normale
pH	↑	↑ moderat sau la limita superioară a valorii normale
PCO_2	↓	↓
[HCO_3^-]	↓ moderat	↓

INTERPRETAREA GAZELOR SÂNGELUI

O înţelegere completă a fiziopatologiei homeostaziei acido-bazice este esenţială pentru interpretarea corectă a examenelor de laborator, care trebuie considerate în contextul lor clinic.

Punctul de plecare al oricărei evaluări ar trebui să fie concentraţia în ioni de hidrogen $[H^+]$ sau valoarea pH-ului. Acesta indică în primul rând dacă perturbarea predominantă este o acidoză sau o alcaloză. Totuşi, o valoare de pH normală nu permite excluderea unui dezechilibru acido-bazic. Poate fi vorba de o tulburare compensată în totalitate, sau de două perturbări primare ale căror efecte asupra pH-ului se anulează reciproc.

În cazul în care presiunea parţială PCO_2 este anormală, ar putea fi vorba de o componentă respiratorie.

Dacă PCO_2 este crescută în contextul unei acidoze, această acidoză este respiratorie; compararea concentraţiei ionilor de hidrogen cu cea prevăzută de către variaţia acută a PCO_2 indică prezenţa eventuală a unei componente metabolice suplimentare, care poate fi în acest caz de natură compensatorie.

Dacă PCO_2 este scăzută într-o acidoză, aceasta este metabolică, cu prezenţa unei componente respiratorii suplimentare, adesea reflectând compensaţia. Acelaşi raţionament se aplică şi în cazul alcalozelor. Un algoritm de interpretare a gazelor sângelui este prezentat în figura II.6.

Concentraţia în bicarbonat fiind calculată plecând de la PCO_2 şi $[H^+]$, ea nu furnizează nici o informaţie complementară cu privire la aceste două măsuri luate individual. Totuşi, luarea în calcul a concentraţiei în bicarbonat poate simplifica interpretarea gazelor sângelui. Această concentraţie este întotdeauna scăzută în acidozele metabolice şi creşte în alcalozele metabolice, dincolo de orice consideraţie de compensare.

Perturbările acido-bazice mixte sunt frecvente şi par destul de complexe. Un diagnostic corect presupune o abordare logică şi o bună înţelegere a mecanismelor fiziopatologice implicate, precum şi a relaţiei cantitative între PCO_2 şi $[H^+]$.

Tabelul II.2. Modificările biochimice caracteristice diverselor perturbări ale homeostaziei acido-bazice

	Acidoză			Alcaloză		
	Metabolică	Respiratorie		Metabolică	Respiratorie	
		Acută	Cronică		Acută	Cronică
$[H^+]$	↑	↑	↑ moderată sau la limita superioară a valorii normale	↓	↓	↓ moderată sau la limita inferioară a valorii normale
pH	↓	↓	↓ moderată sau la limita inferioară a valorii normale	↑	↑	↑ moderat sau la limita superioară a valorii normale
PCO_2	↓	↑	↑	↑	↓	↓
$[HCO_3^-]$	↓↓	↑ moderat	↑	↑↑	↓ moderat	↓

Prin această abordare fiziologică (Figura II.6 şi Tabelul II.2), nu se mai folosesc parametrii calculaţi, nici noţiunile de «bicarbonaţi standard» sau «exces de bază. «Bicarbonaţii standard» corespund unei estimări calculate a concentraţiei în bicarbonat care ar fi observată dacă PCO_2 ar fi normală; această noţiune reflectă prin urmare doar influenţa componentei metabolice asupra concentraţiei de bicarbonat. «Excesul de bază» este o estimare calculată a influenţelor metabolice asupra capacităţii tampon totale. Aceşti parametri au fost introduşi cu ceva timp în urmă în scopul diferenţierii componentelor metabolice şi respiratorii ale dereglărilor acido-bazice, însă nu iau în calcul răspunsurile fiziologice normale. «Bicarbonaţi standard» sau un «exces de bază» anormali indică prezenţa unei acidoze sau a unei alcaloze metabolice. Totuşi, noţiunile nu pot preciza dacă perturbarea observată este un element al unei tulburări mixte, sau dacă ea este în relaţie cu vreun fenomen de compensaţie fiziologică.

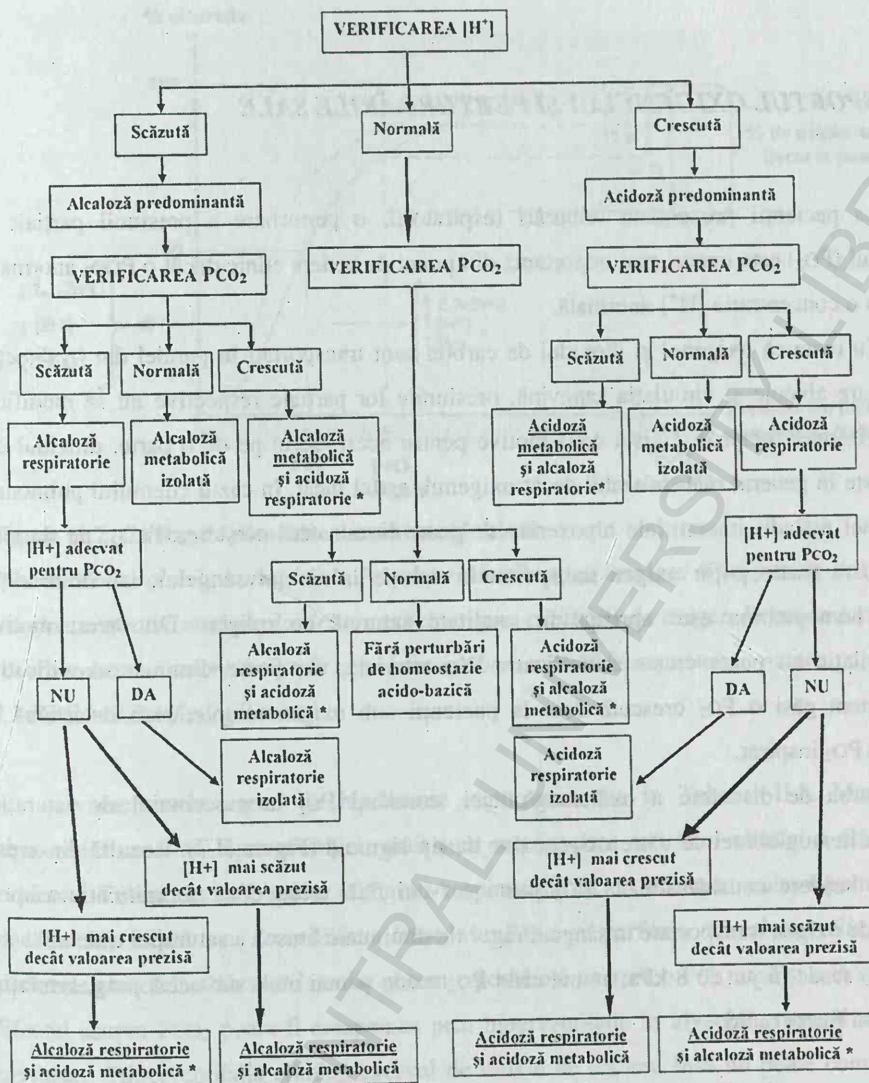


Figura II.6. Algoritm de analiză a gazelor sângelui

Atunci când două perturbări sunt asociate, cea care predomină este subliniată.

(*) indică o perturbare care poate traduce un mecanism de compensație fiziologică, sau corespunde unui proces patologic coexistent.

TRANSPORTUL OXIGENULUI ŞI PERTURBĂRILE SALE

La pacienţii prezentând tulburări respiratorii, o perturbare a presiunii parţiale a oxigenului (PO_2) este uneori mai importantă din punct de vedere clinic decât o PCO_2 anormală sau decât o concentraţie $[H^+]$ anormală.

Cu toate că oxigenul şi dioxidul de carbon sunt transportaţi în paralel dar în direcţii opuse, între alveole şi circulaţia sangvină, presiunile lor parţiale respective nu se modifică neapărat în mod reciproc. Există două motive pentru acest lucru; pe de o parte, dioxidul de carbon este în general mai difuzabil decât oxigenul, astfel încât, în cazul edemului pulmonar sau al unei maladii interstiţiale hipoxemia se poate instala fără creşterea PCO_2; pe de altă parte, există foarte puţin oxigen transportat în soluţie la nivelul sângelui, iar în condiţii normale hemoglobina este aproape în totalitate saturată cu oxigen. Din acest motiv, hiperventilaţia nu poate creşte semnificativ PO_2 arterială, dar poate diminua semnificativ PCO_2. Putem găsi o PO_2 crescută doar la pacienţii sub oxigenoterapie, care determină o creştere a PO_2 inspirat.

Curba de disociere a oxihemoglobinei, corelând PO_2 la procentajul de saturaţie maximă a hemoglobinei de către oxigen, este de tip sigmoid (Figura II.7). Rezultă din acest fapt că o scădere considerabilă a PO_2 poate surveni fără vreun efect semnificativ asupra cantităţii de oxigen transportate în sânge. Pragul de diminuare bruscă a saturaţiei este la 90 %, când PCO_2 scade în jur de 8 kPa; atunci când PO_2 scade şi mai mult sub acest prag, saturaţia diminuează foarte rapid.

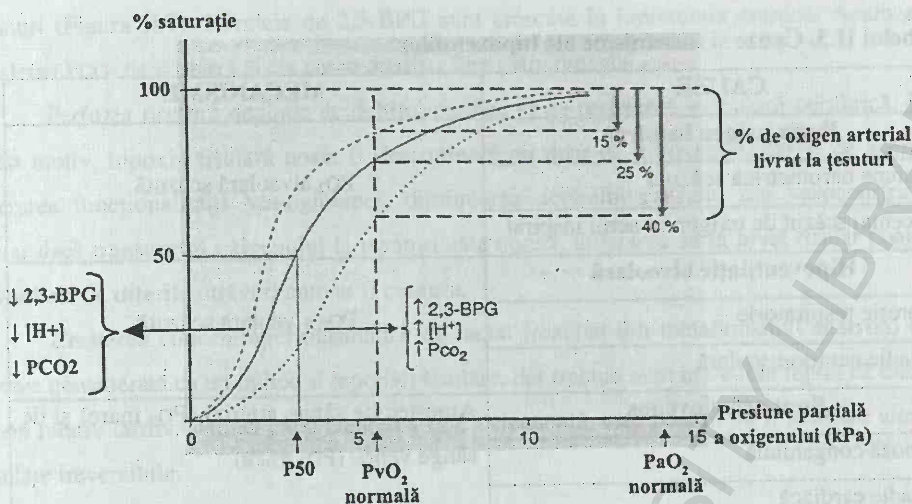


Figura II.7. Curba de disociere a oxihemoglobinei

Sunt indicate valorile normale ale PO_2 arteriale (PaO_2) şi venoase (PVO_2). Este de asemenea menţionat efectul unei deplasări a curbei asupra cantităţii de oxigen livrat la ţesuturi. P_{50} corespunde unei valori de PO_2 la care hemoglobina este 50 % saturată cu oxigen.

2,3-BPG = 2,3-bifosfoglicerat

Numeroasele cazuri de hipoxemie sunt prezentate în Tabelul II.3. Mecanismele hipoxemiei asociate hipoventilaţiei, unui şunt arteriovenos sau unei alterări a difuziei sunt evidente. Totuşi, în mai multe afecţiuni respiratorii, ca de exemplu colaps pulmonar sau pneumonie, există un dezechilibru între ventilaţie şi perfuzia alveolelor. Sângele care părăseşte alveolele slab ventilate dar puternic perfuzate va avea o PO_2 joasă şi o PCO_2 ridicată. Efectul asupra PCO_2 poate fi compensat prin hiperventilaţie în alveolele normal ventilate şi perfuzate. Hiperventilaţia elimină excesul de dioxid de carbon, însă nu poate compensa PO_2 scăzută în sângele provenit din alveole slab ventilate, deoarece hemoglobina sângelui provenită din alveole bine perfuzate este în totalitate saturată. Din acest motiv, cantitatea de oxigen transportată nu poate fi crescută. Alveolele slab perfuzate reprezintă prin urmare un spaţiu mort. Cu un dezechilibru ventilaţie/perfuzie moderat, PO_2 este diminuată, iar PCO_2 este normală sau chiar scăzută. În cazul unui dezechilibru sever, hiperventilaţia, prin creşterea eliminării dioxidului de carbon prin alveole ventilate şi perfuzate normal, nu mai poate realiza compensarea, iar PCO_2 creşte.

Tabelul II.3. Cauze şi mecanisme ale hipoxemiilor

CAUZE	MECANISME
Puţin oxigen inspirat	
Presiune barometrică scăzută	PO_2 alveolară scăzută
Procentaj scăzut de oxigen în aerul inspirat	
Hipoventilaţie alveolară	
Depresie respiratorie	PO_2 alveolară scăzută
Maladie neuromusculară	
Şunt arteriovenos	Amestec de sânge arterial (PO_2 mare) şi de
Cianoză congenitală	sânge venos (PO_2 mică)
Maladie cardiacă	
Alterare a difuziei	PO_2 alveolară normală, dar oxigenare
Fibroză pulmonară	arterială ineficientă
Alterarea raportului ventilaţie/perfuzie	Sângele irigă teritorii pulmonare
Bronhopneumopatie cronică obstructivă	neventilate şi nu este oxigenat

Cu toate că o PO_2 arterială adecvată este esenţială pentru oxigenarea normală a ţesuturilor, nu este singurul factor implicat. Cantitatea de oxigen livrată la ţesuturi depinde de concentraţia în oxigen a sângelui arterial şi de perfuzia tisulară.

Concentraţia în oxigen a sângelui depinde de concentraţia hemoglobinei şi de gradul de saturare a acesteia, care la rândul lui este dependent de afinitatea hemoglobinei pentru oxigen şi de PO_2.

Saturarea hemoglobinei poate fi măsurată *in vitro* sau, în mod clasic în practica clinică, *in vivo* utilizând un oximetru. Acest tip de aparat, care măsoară în acelaşi timp pulsaţiile, este foarte uşor, putând fi plasat la nivelul lobului urechii sau a vârful unui deget. El măsoară saturarea oxigenului urmărind absorbţia luminii de către oxi- şi dezoxihemoglobină la nivelul ţesutului adiacent.

Diferiţi factori pot afecta afinitatea hemoglobinei pentru oxigen, şi deci procentul de saturare, pentru o valoare a PO_2 dată. Un element important de reglare fiziologică este 2,3-bifosfogliceratul (2,3-BPG). O creştere a 2,3-BPG în globulele roşii provoacă deplasarea curbei de disociere a oxihemoglobinei spre dreapta, ceea ce facilitează livrarea oxigenului la

țesuturi (Figura II.7). Nivelele de 2,3-BPG sunt crescute în hipoxemia cronică. Acidoza și creșterea PCO_2 deplasează și ele curba de disociere către dreapta.

Perfuzia tisulară depinde de debitul cardiac și de rezistența vasculară periferică. Din acest motiv, hipoxia tisulară poate fi determinată nu doar de hipoxemie, dar și de anemie, alterarea funcționalității hemoglobinei, diminuarea debitului cardiac, sau vasoconstricție. Chiar dacă transportul oxigenului la țesuturi este corect, utilizarea sa la nivel tisular poate fi perturbată de diferite otrăvuri cum ar fi cianura.

Creșterea concentrației plasmatice de lactat (rezultat din metabolismul anaerob) este adesea considerată ca un indice al hipoxiei tisulare, dar trebuie avut în vedere faptul că este un semn relativ tardiv. Atunci când creșterea este detectabilă, este posibil să fi avut loc alterări tisulare ireversibile.

CAPITOLUL III. GLUCOZA ŞI DIABETUL ZAHARAT

INTRODUCERE

Glucoza este substratul energetic fundamental al organismului. Glucoza plasmatică provine din surse exogene - glucidele alimentare, dar şi din surse endogene (în principal hepatice) prin glicogenoliză (eliberarea de glucoză stocată sub formă de glicogen) şi neoglucogeneză (sinteza de glucoză din compuşi neglucidici, ca de exemplu din lactat, glicerol şi o serie de aminoacizi).

Concentraţia sanguină de glucoză sau glicemia este rezultatul unui echilibru dintre aport şi eliminare, biosinteză şi degradare. À jeun, concentraţia glucozei sanguine variază între 600-1000 mg/l (3,33-5,55 mmoli/l).

Glicemia este supusă unei reglări fiziologice extrem de eficiente, astfel încât la subiecţii sănătoşi sunt rare cazurile când aceasta scade sub 2,5 mmol/l sau creşte peste 8 mmol/l, fie à jeun fie în perioada postprandială. După ingestia de alimente, glucoza este stocată sub formă de glicogen şi apoi mobilizată în cursul perioadei lipsite de aport alimentar. Chiar dacă glicemia diminuă puţin în lipsa prelungită a aportului alimentar, iar stocurile hepatice de glicogen sunt epuizate în decursul a 24 de ore, există mecanisme de adaptare ce permit atingerea unei noi stări de echilibru. După aproximativ 72 de ore, glicemia este stabilizată şi rămâne constantă pe parcursul mai multor zile. Sursa principală de glucoză devine neoglucogeneza plecând de la aminoacizi şi glicerol în timp ce corpii cetonici derivaţi din lipide devin substratul energetic predominant (Figura III.1).

Integrarea acestor căi metabolice în controlul glicemiei este rezultatul acţiunii a numeroşi hormoni: insulina, principalul hormon hipoglicemiant precum şi glucagonul, cortizolul, catecolaminele (adrenalina, noradrenalina) şi hormonul de creştere, hormoni cu acţiune hiperglicemiantă (Figura III.2).

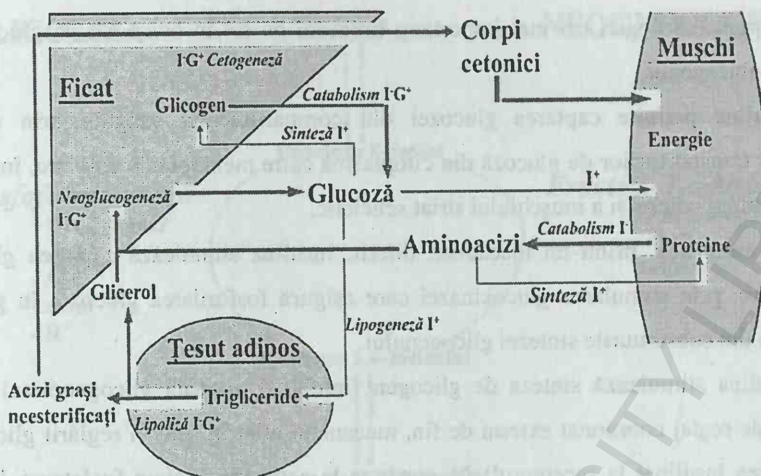


Figura III.1. Homeostazia glucozei

I^- : inhibiția prin insulină; I^+ : stimularea prin insulină; G^+ : stimularea prin glucagon

HORMONII		ACTIUNEA PRINCIPALA	SITUSURILE TINTA
Insulina	↑	captarea celulara de glucoza	muschi, tesut adipos
	↑	sinteza de glicogen	ficat, muschi
	↑	sinteza proteica	ficat, muschi
	↑	sinteza de acizi grasi si trigliceride	ficat, tesut adipos
	↓	neoglucogeneza	ficat
	↓	glicogenoliza	ficat, muschi
	↓	cetogeneza	ficat
	↓	lipoliza	tesut adipos
	↓	proteoliza	muschi
Glucagon	↑	glicogenoliza	ficat
	↑	neoglucogeneza	ficat
	↑	cetogeneza	ficat
	↑	lipoliza	tesut adipos
Adrenalina	↑	glicogenoliza	ficat, muschi
	↑	lipoliza	tesut adipos
Hormonul de crestere	↑	glicogenoliza	ficat
	↑	lipoliza	tesut adipos
Cortizol	↑	neoglucogeneza	ficat
	↑	sinteza de glicogen	ficat
	↑	proteoliza	muschi
	↓	utilizarea tisulara de glucoza	ficat, muschi, tesut adipos

Figura III.2. Hormonii implicați în homeostazia glucidică

Pe plan fiziologic, cei mai importanţi hormoni cu rol în homeostazia glucidică sunt insulina şi glucagonul.

Insulina permite captarea glucozei din compartimentul sanguin prin stimularea translocării transportorilor de glucoză din citoplasmă către membranele celulare, în special la nivelul ţesutului adipos şi a muşchiului striat scheletic.

De asemenea, printr-un mecanism diferit, insulina stimulează captarea glucozei la nivel hepatic, prin stimularea glucokinazei care asigură fosforilarea glucozei în glucoză-6-fosfat, unul din substraturile sintezei glicogenului.

Insulina stimulează sinteza de glicogen (inhibând totodată glicogenoliza) printr-un mecanism de reglaj coordonat extrem de fin, mecanism aflat în centrul reglării glicemiei. Pe scurt, legarea insulinei la receptorul său conduce la activarea protein fosfatazei 1. Această enzimă defosforilează în acelaşi timp glicogen sintaza (activând-o şi permiţându-i astfel declanşarea sintezei de glicogen) şi fosforilazokinaza (care în revanşă devine inactivă, împiedicând astfel activarea glicogen fosforilazei, enzima cheie a glicogenolizei). Drept consecinţă, *à jeun*, atunci când secreţia de insulină este inhibată, glicogenoliza hepatică este activată şi glucoza este eliberată în sânge.

Insulina controlează în aceeaşi măsură activarea glicolizei şi inhibarea reciprocă a neoglucogenezei, prin activarea expresiei mai multor enzime: fosfofructokinaza, piruvat kinaza, precum şi enzima responsabilă de sinteza unui efector alosteric fundamental, fructozo 2,6-bisfosfatul (Figura III.3).

Totodată, insulina joacă un rol important în reglarea metabolismului lipidic, prin stimularea lipogenezei şi inhibarea lipolizei. De asemenea, ea stimulează captarea intracelulară a aminoacizilor şi sinteza proteică, precum şi captarea intracelulară a potasiului.

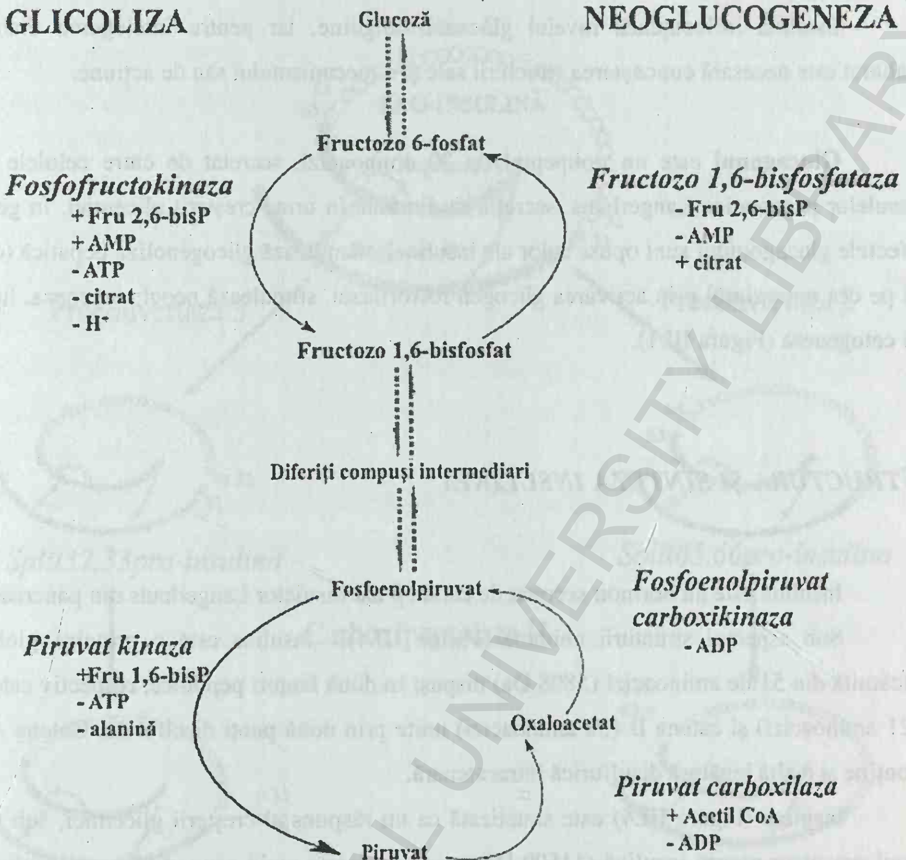


Figura III.3. Controlul reciproc al glicolizei şi al neoglucogenezei în ficat

Insulina (eliberată în perioada postprandială) stimulează expresia fosfofructokinazei, piruvat kinazei şi a enzimei responsabile de sinteza de fructozo 2,6 bisfosfat. Astfel, glicoliza este stimulată, iar neoglucogeneza inhibată.

Glucagonul (eliberat à jeun) inhibă expresia acestor enzime şi stimulează producerea de fosfoenolpiruvat kinază şi de fructozo 1,6 bisfosfatază. Astfel, neoglucogeneza este stimulată şi glicoliza inhibată.

+ : activator enzimatic

- : inhibitor enzimatic

AMP: adenozin monofosfat

ADP: adenozin difosfat

Insulina influențează nivelul glucozei sanguine, iar pentru înțelegerea diabetului zaharat este necesară cunoaşterea structurii sale şi a mecanismului său de acţiune.

Glucagonul este un polipeptid de 29 aminoacizi, secretat de către celulele α ale insulelor pancreatice Langerhans; secreţia sa diminuă în urma creşterii glicemiei. În general, efectele glucagonului sunt opuse celor ale insulinei: stimulează glicogenoliza hepatică (dar nu şi pe cea musculară) prin activarea glicogen fosforilazei, stimulează neoglucogeneza, lipoliza şi cetogeneza (Figura III.1).

STRUCTURA ŞI SINTEZA INSULINEI

Insulina este un hormon secretat de celule β ale insulelor Langerhans din pancreas.

Sub aspectul structurii chimice (Figura III.4), insulina este o proteină globulară alcătuită din 51 de aminoacizi (5808 Da) dispuşi în două lanțuri peptidice, respectiv catena A (21 aminoacizi) şi catena B (30 aminoacizi) unite prin două punți disulfurice. Catena A mai conține şi o altă legătură disulfurică intracatenară.

Insulina (Figura III.4) este sintetizată ca un răspuns al creşterii glicemiei, sub forma unui precursor prepro-insulină (11500 Da) care este foarte rapid convertit în pro-insulină (86 aminoacizi, 9600 Da) prin eliminarea peptidului semnal. Gena (pro-) insulinei, formată din 3 exoni şi 2 introni, cu talia de 1,5 kb, este situată pe brațul scurt al cromozomului 11. Proinsulina alcătuită dintr-o singură catenă împărțită în 3 regiuni numite A, B, C şi cu 3 punți disulfurice, este transportată în aparatul Golgi şi apoi clivată prin 2 endopeptidaze la nivelul joncțiunilor AC (Lys^{64}-Arg^{65}) şi BC (Arg^{31}-Arg^{32}). O carboxipeptidază specifică elimină mai departe cele două perechi de aminoacizi situați la nivelul celor 2 puncte de clivare, generând peptidul C inactiv şi insulina.

În paralel cu această modificare, aparatul Golgi emite vezicule ce se vor transforma în granule de secreție în care se concentrează pro-insulina şi derivații săi. Aceste procese complexe implică deci compuşi intermediari (split-pro-insulinele) care, împreună cu pro-insulina intactă, subzistă în cantitate mică (2-6 %) în granulele de secreţie, alături de insulină şi de peptidul C.

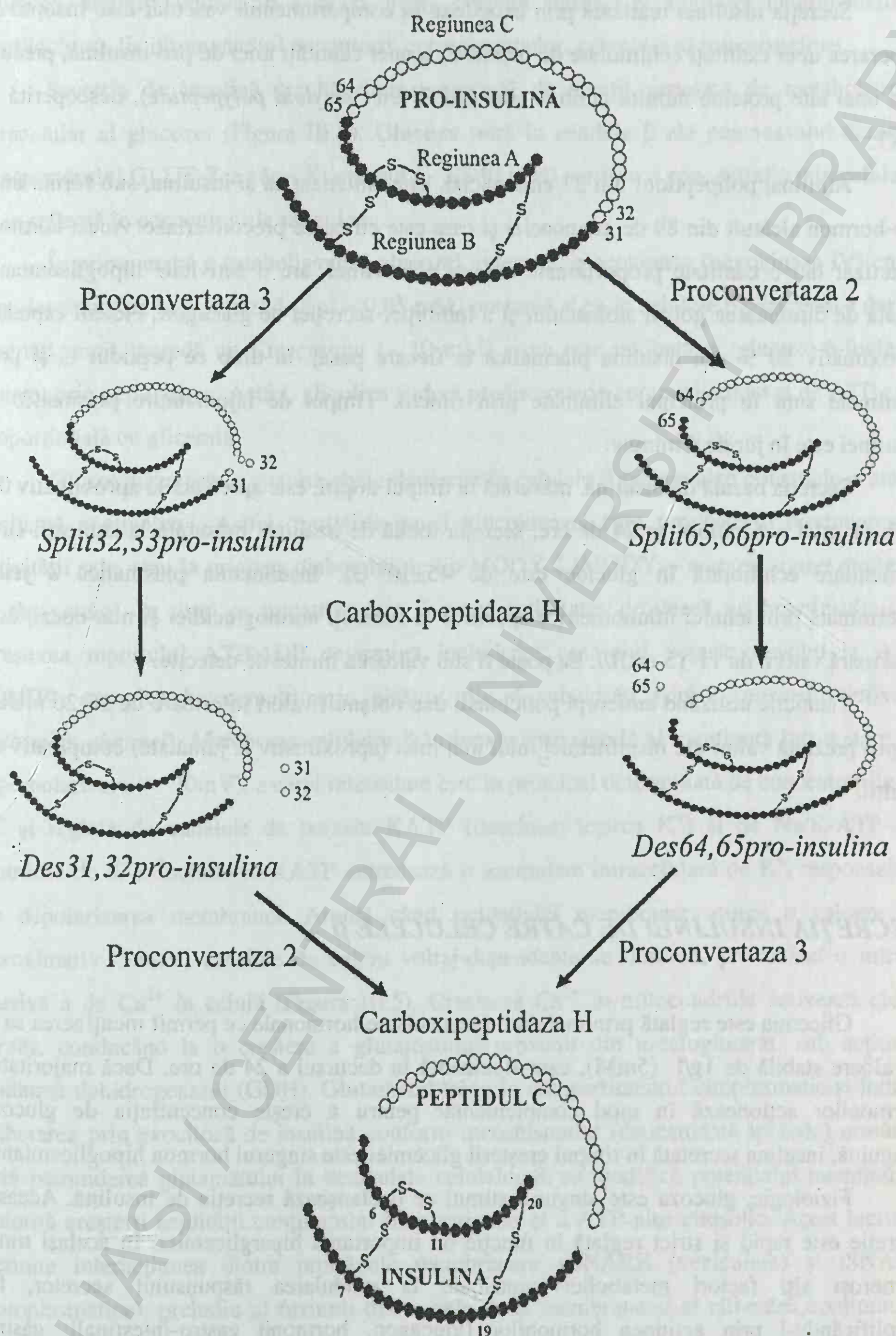


Figura III.4. Maturarea pro-insulinei în insulină şi peptidul C

Secreția insulinei realizată prin exocitoză în compartimentul vascular este însoțită de eliberarea unei cantități echimolare de peptid C, a unei cantități mici de pro-insulină, precum şi a unei alte proteine numită amilină (sau IAPP, *islet amyloid polypeptide*), descoperită în 1987.

Amilina, polipeptidul din 37 aminoacizi, este sintetizat ca şi insulina, sub forma unui pro-hormon alcătuit din 89 de aminoacizi şi care este clivat de proconvertaze. Acest hormon, sintetizat într-o cantitate proporțională cu cea a insulinei, are o activitate hipoglicemiantă legată de diminuarea golirii stomacului şi a inhibiției secreției de glucagon. Ficatul captează aproximativ 50 % din insulina plasmatică la fiecare pasaj, în timp ce peptidul C şi pro-insulinele sunt în principal eliminate prin rinichi. Timpul de înjumătățire plasmatică al insulinei este în jur de 4 minute.

Secreția bazală de insulină, măsurată în timpul nopții, este apreciată la aproximativ 0,5 UI/h (1 mUI = 6 pmol). În 24 de ore, secreția totală de insulină, măsurată la subiecții cu o alimentație echilibrată în glucide este de 45±10 UI. Insulinemia plasmatică *à jeun*, determinată prin tehnici imunometrice specifice la subiecți normoglucidici şi non-obezi, este inferioară valorii de 11-15 mUI/l. Ea poate fi sub valoarea limitei de detecție.

Tehnicile utilizând anticorpi policlonali dau obişnuit valori inferioare de 20-26 mUI/l. Copiii prezintă valori ale insulinemiei mult mai mici (aproximativ la jumătate) comparativ cu adulții.

SECREȚIA INSULINEI DE CĂTRE CELULELE β

Glicemia este reglată prin mai multe mecanisme hormonale ce permit menținerea sa la o valoare stabilă de 1g/l (5mM), uşor fluctuantă în decursul a 24 de ore. Dacă majoritatea hormonilor acționează în mod complementar pentru a creşte concentrația de glucoză sanguină, insulina secretată în timpul creşterii glicemiei este singurul hormon hipoglicemiant.

Fiziologic, glucoza este singurul stimul ce declanşează secreția de insulină. Această secreție este rapid şi strict reglată în funcție de importanța hiperglicemiei. În acelaşi timp, numeroşi alți factori metabolici contribuie la modularea răspunsului secretor, fie amplificându-l prin acțiunea hormonilor (glucagon, hormonii gastro-intestinali: gastric inhibitory polypeptide [GIP], glucagon-like peptide [GLP-1], colecistokinina), nutrienților

(fructoza, anumiţi aminoacizi şi acizi graşi), corpilor cetonici şi anumitor neuromediatori (acetilcolina), fie diminuându-l cu ajutorul catecolaminelor, galaninei şi somatostatinei.

Secreţia de insulină rezultă dintr-o cascadă de reacţii generate de metabolismul intracelular al glucozei (Figura III.5). Glucoza intră în celulele β ale pancreasului datorită transportorului GLUT-2, a cărui Kt crescut (~ 20-40 mM) permite o concentraţie intracelulară ce se reflectă în concentraţiile sanguine.

În prima etapă a catabolismului glucozei, intervine glucokinaza (hexokinaza IV) care, spre deosebire de hexokinaza I (Km ~ 0,05 mM) prezentă şi ea în celulele β pancreatice dar în cantităţi mici), posedă un Km crescut (~ 10 mM) şi nu este inhibată de glucozo-6-fosfatul generat prin acţiunea sa. Astfel, glicoliza şi deci producerea de compuşi reduşi şi de ATP este proporţională cu glicemia.

Glucokinaza este o enzimă cheie deoarece în celulele β pancreatice constituie o etapă limitantă a glicolizei. Astfel, mutaţiile genei glucokinazei care provoacă o diminuarea a activităţii sale, stau la originea diabetului de tip MODY 2 (MODY – *maturity-onset diabetes of the young*), în timp ce mutaţiile care îi cresc activitatea provoacă un hiperinsulinism. Creşterea raportului ATP/ADP determină închiderea canalului potasic sensibil la ATP (KATP), complex heteromultimeric alcătuit din 4 subunităţi Kir6.2 (*inward rectifying potassium channel*). Membrana celulelor β în repaus este stabilă şi menţinută într-o stare de hiperpolarizare (~ -70mV), a cărei intensitate este în principal determinată de concentraţiile de K^+ şi reglată de canalele de potasiu KATP (deschise: ieşirea K^+) şi de Na/K-ATP-aza (intrările de K^+). Închiderea KATP antrenează o acumulare intracelulară de K^+, responsabilă de depolarizarea membranei. Atunci când potenţialul membranar atinge o valoare de aproximativ -55mV, canalele de calciu voltaj-dependente se deschid, provocând o intrare masivă a de Ca^{2+} în celulă (Figura III.5). Creşterea Ca^{2+} în mitocondriile activează ciclul Krebs, conducând la o creştere a glutamatului provenit din α-cetoglutarat, sub acţiunea glutamat dehidrogenazei (GDH). Glutamatul trece în compartimentul citoplasmatic şi induce eliberarea prin exocitoză de insulină conform mecanismului (deocamdată ipotetic) următor: prin pătrunderea glutamatului în veziculele celulelor β, se modifică potenţialul membranar, datorită creşterii acidităţii conţinutului intravezicular şi a ATP-ului citosolic. Acest lucru ar permite interacţiunea dintre proteinele membranare vSNARE (veziculare) şi tSNARE (citoplasmatice), preludiu al fuziunii dintre cele două membrane şi al eliberării conţinutului vezicular (exocitoza).

Celulele β conţin în jur de 13 000 astfel de vezicule, din care doar aproximativ 50 pot fi rapid mobilizate.

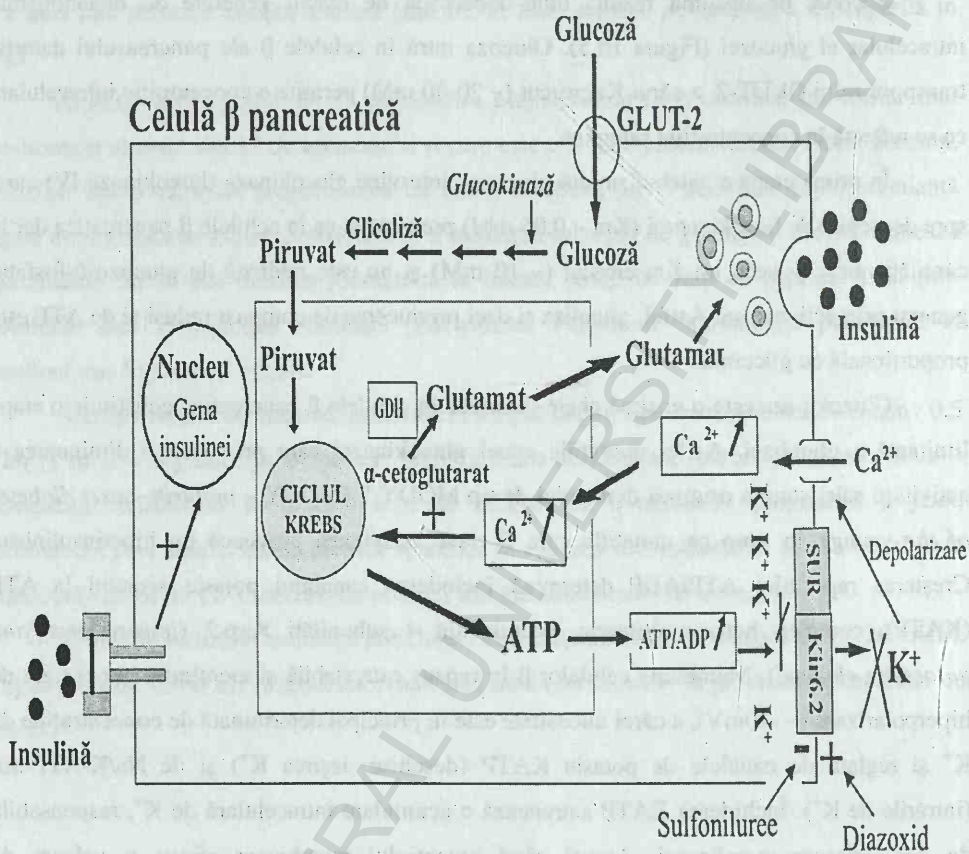


Figura III.5. Secreția insulinei de către celulele β-pancreatice (*adaptat după Dellatre J., 2003*)

SUR: receptor de sulfoniluree

Kir: inwardly rectifying potassium channel

GDH: glutamat dehidrogenaza

GLUT: transportor de glucoză

Această compartimentare explică secreția bifazică de insulină ca răspuns la un stimul glucidic: o creștere rapidă și importantă a insulinemiei (în primele 10 minute) este urmată de o secreție scăzută dar prelungită, ce crește progresiv și persistă atâta vreme cât hiperglicemia este prezentă. Această fază secundă, care depinde de evoluția veziculelor pool-ului de stocare

în vezicule pregătite pentru exocitoză (inițiere sau priming), se realizează normal la un ritm de 5-10 vezicule/min/celulă. Ea pare direct legată de producerea şi acțiunea glutamatului.

Dacă mecanismul astfel descris reprezintă o cale fiziologică majoră a secreției de insulină de către celulele β pancreatice, nu este exclus ca să existe şi alte căi intracelulare, activatoare sau modulatoare (inozitol fosfații membranari, AMP ciclic), care să regleze într-o măsura mai mică sau mai mare insulinosecreția.

Odată secretată, insulina poate stimula printr-un efect autocrin propria sa producție, prin legarea de receptorul său prezent în celulele β şi prin activarea în acest mod a transcripției genei sale.

Identificarea mecanismelor implicate în producerea de insulină permit o mai bună înțelegere a fiziopatologiei numeroaselor sindroame, precum şi a mecanismelor de acțiune a medicamentelor în anumite tulburări de reglare glicemică. Astfel, sindromul Fanconi-Bickel, foarte rar, care se traduce printr-o nefropatie, o galactozemie şi o utilizare anormală a glucozei (hipoglicemie *à jeun*, hiperglicemie post-prandială, hipoinsulinemie, hiperglucozurie, acumulare hepato-renală de glicogen) este legat de mutații ale genei ce codifică GLUT-2.

Pe de altă parte, anumite mutații ale genelor SUR1 şi Kir6.2 determină inactivarea canalului potasic ATP-dependent (KATP), provocând o secreție permanentă de insulină, nereglată prin glucoză, stând la originea formelor de hipoglicemie persistentă hiperinsulinică (PHHI - *persistant hyperinsulinemic hypoglicemia of infancy*). Aceste forme de hiperinsulinism transmise autozomal recesiv, deşi rare (1/50 000 naşteri în Europa), induc hipoglicemii severe ce apar la vârste foarte mici, fiind în acelaşi timp şi greu de tratat.

Mutații ale genelor glutamat dehidrogenazei (GDH) induc de asemenea un hiperinsulinism, probabil prin modificarea concentrațiilor glutamatului intracelular şi a raportului ATP/ADP. Uneori, *à jeun*, utilizarea leucinei (ca test de stimulare la o doză de 150 mg/kg la adult) induce modificări alosterice ale GDH, provocând o secreție de insulină. Substanțele antidiabetice precum sulfonilureicele şi metiglinidele, datorită legării la SUR1 şi închiderii canalele KATP, exercită un efect hipoglicemiant, fiind utilizate în tratamentul diabetului de tip 2. Utilizarea de diazoxid ce se leagă de asemenea la SUR1 acționează de o manieră inversă, fiind administrat în tratamentul anumitor forme de hipoglicemie.

În timp ce genele codante pentru SUR1 şi Kir6.2 nu par să fie implicate în diabetul de tip 2 în calitate de gene majore de susceptibilitate, anumite variante alelice ar putea exercita în acelaşi timp un efect minor (rol în insulino-sensibilitate, obezitate) într-un context poligenic.

RECEPTORII INSULINEI

Legarea insulinei la receptorul său (Figura III.6) declanşează o cascadă de reacţii intracelulare complexe, care conduc în special la translocarea transportorilor GLUT-4, ceea ce explică activitatea sa hipoglicemiantă (Figura III.7).

Receptorul insulinei aparţine unei familii de receptori de factori de creştere incluzând în special IGF-1 (*insulin-like growth factor 1*) şi EGF (*epidermal growth factor*), a căror particularitate este prezenţa unei activităţi tirozin kinazice intriseci.

Receptorul insulinei (Figura III.6) este un heterotetramer glicoproteic format prin asamblarea a două subunităţi α (135 kDa) şi două subunităţi β (95 kDa). Cele două subunităţi α extracelulare, ce conţin situsul de fixare al insulinei, sunt legate atât între ele cât şi cu celelalte două subunităţi β prin punţi disulfurice. Subunităţile β sunt transmembranare şi prezintă în partea lor intracelulară un domeniu tirozin kinază. Gena subunităţii α este transcrisă în ARN pre-mesager, care poate fi procesat diferenţial prin splicing alternativ, ceea ce conduce la sinteza a două izoforme ale receptorului, A şi B. Izoforma B conţine suplimentar 12 aminoacizi în regiunea C-terminală. Receptorul insulinei poate de asemenea lega IGF-1 şi IGF-2, însă cu o afinitate mai scăzută de 100, şi respectiv 1 000 de ori.

Legarea unei molecule de insulină la cele două subunităţi α a receptorului determină o schimbare a conformaţiei sale care suprimă inhibiţia activităţii tirozin-kinazice. Domeniul tirozin kinazic prezintă un situs catalitic, un situs de legare al ATP (Lys 1030) şi un domeniu conţinând reziduuri tirozină (Figura III.6). Stimularea activităţii tirozin kinazei provoacă o trans-autofosforilare a anumitor reziduuri de tirozină situate în trei regiuni distincte: regiunea C-terminală (poziţiile 1328 şi 1334 pentru izoforma B), domeniul catalitic (poziţiile 1158, 1162 şi 1163) şi domeniul juxtmembranar (poziţiile 965 şi 972). Astfel fosforilat, receptorul dobândeşte la rândul său o importantă activitate kinazică, devenind capabil de a fosforila şi alte substraturi decât pe cele proprii, cum ar fi proteinele IRS (*insulin receptor substrate*) şi Shc.

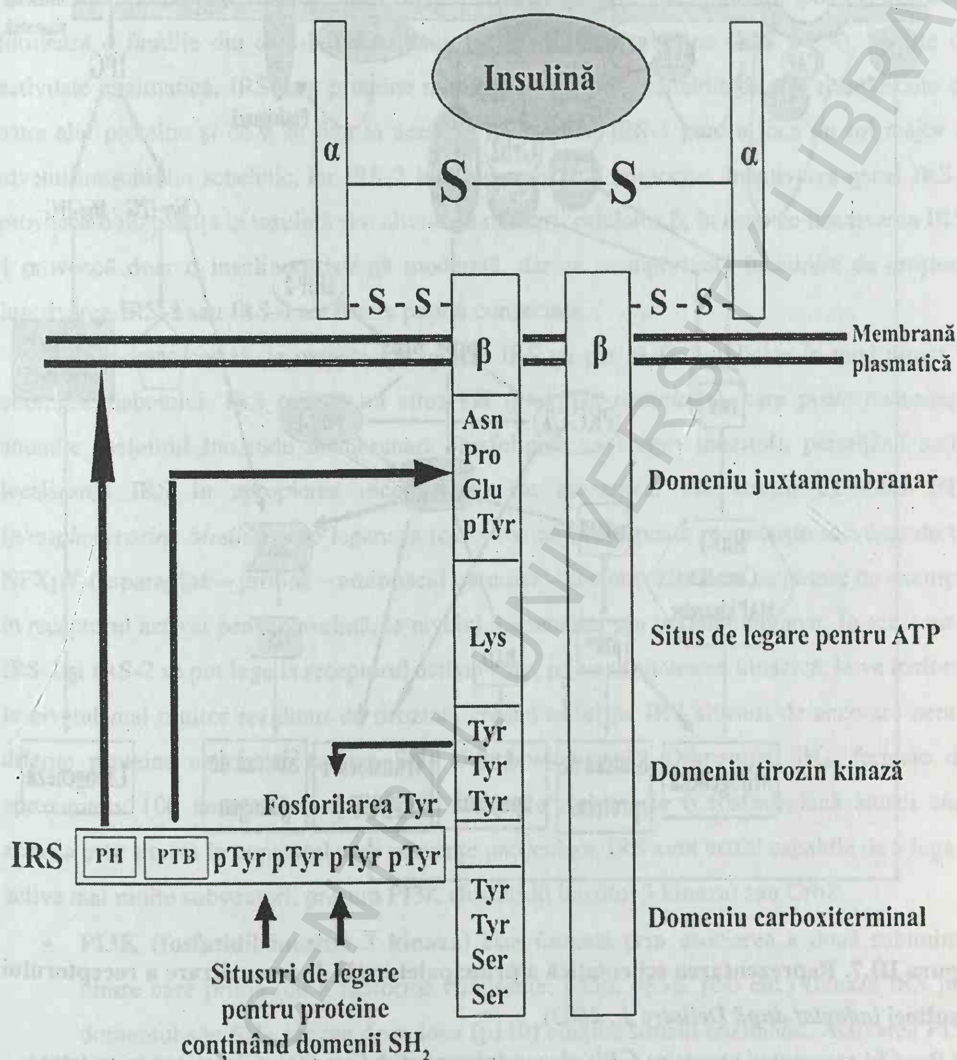


Figura III.6. Receptorul de insulină şi IRS (*adaptat după Dellatre J., 2003*)

IRS: insulin receptor substrate;

PH: plekstrin homology;

PTB: phosphotyrosine binding;

pTyr: phosphotyrosine

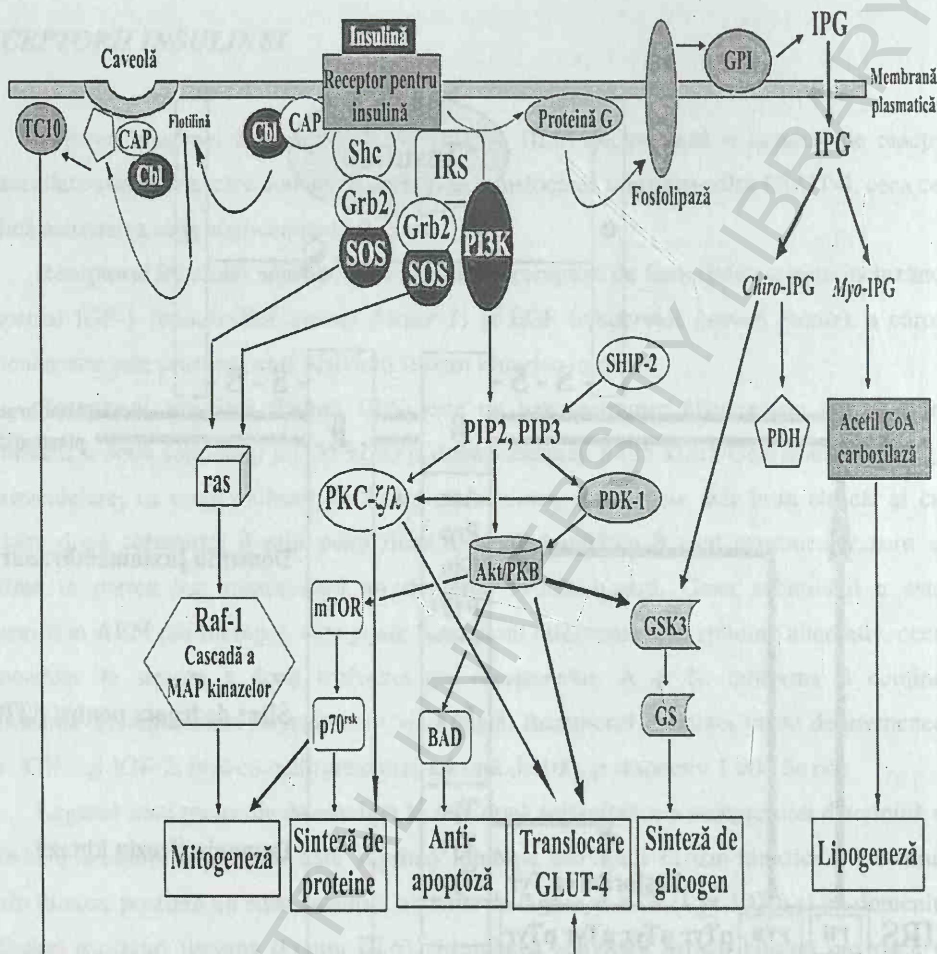


Figura III.7. Reprezentarea schematică a principalelor căi de semnalizare a receptorului insulinei (*adaptat după Dellatre J., 2003*)

CAP:c-Cbl-associated preotein; GPI: glycosylphosphatidyl inositol; GS: glicogen sintetaza; GSK3: GS kinaza; IPG: inositolphosphate glycan; IRS: insulin receptor substrate; MAP: mitogen-activated protein; mTOR: mammalian target of rapamycin;p70^{rsk}: p70 ribosomal S6 kinaza; PDH: piruvat dehidrogenaza; PDK-1:kinaza PI3K-dependentă; PI3K: phosphatidyl inositol 3 kinase; PIP$_2$, PIP$_3$: phosphatidyl inositol-3,4-bi-3,4,5-triphosphates; PK: protein kinaza; SHIP-2: inositol 5-phosphatase domaine SH$_2$; SHP-2: tyrosin phosphatase.

Calea de activare prin proteinele IRS

IRS (*Insuline receptor Substrate* – Substraturi ale Receptorului pentru Insulină) formează o familie din care la ora actuală fac parte patru proteine (IRS 1 - 4). Lipsite de activitate enzimatică, IRS sunt proteine numite „adaptatori", capabile de a fi recunoscute de către alte proteine şi de a se fixa la acestea. La şoareci, IRS-1 pare a juca un rol major la nivelul muşchiului scheletic, iar IRS-2 în ficat, muşchi şi adipocite. Inactivarea genei IRS-2 provoacă o rezistenţă la insulină şi o alterare a creşterii celulelor β, în timp ce inactivarea IRS-1 provoacă doar o insulinorezistenţă moderată, dar cu o importantă încetinire de creştere. Inactivarea IRS-3 sau IRS-4 are foarte puţine consecinţe.

Cu toate acestea, la oameni, proteinele IRS nu par să fie implicate în mod direct în etiologia diabetului. IRS posedă un situs PH (*plekstrin homology*), care poate recunoaşte anumite fosfatidil inozitide membranare (fosfolipide ce conţin inozitol), permiţând astfel localizarea IRS în apropierea receptorilor. De asemenea, ele conţin un situs PTB (*phosphotyrosine binding* – de legare la fosfotirozină), care poate recunoaşte secvenţe de tip NPXpY (asparagină – prolină – aminoacid oarecare – fosfotirozină), ce se găsesc de exemplu în receptorul activat pentru insulină, la nivelul domeniului său juxtamembranar. În acest mod, IRS-1 şi IRS-2 se pot lega la receptorul activat care, prin activitatea sa kinazică, le va fosforila la nivelul mai multor reziduuri de tirozină, creând astfel pe IRS situsuri de ancorare pentru diferite proteine ce conţin motive SH_2 (*Src homology* 2). Domeniile SH_2, formate din aproximativ 100 aminoacizi, au proprietatea de a recunoaşte o fosfotirozină atunci când aceasta este situată în contextul unei secvenţe particulare. IRS sunt astfel capabile de a lega şi activa mai multe substraturi, precum PI3K (fosfatidil inozitol 3 kinaza) sau Grb2:

- **PI3K (fosfatidil inozitol 3 kinaza)** este formată prin asocierea a două subunităţi, dintre care prima (cu 8 izoforme cunoscute: p85α, p85β, p50 etc.) fixează IRS prin domeniul său SH_2, iar cea de-a doua (p110) conţine situsul enzimatic. Activarea PI3K provoacă fosforilarea unor lipide la nivelul ciclului inozitol al acestora, producând astfel fosfo-inozitide precum PIP_2 (fosfatidil inozitol 3,4-bisfosfat) şi PIP_3 (fosfatidil inozitol 3,4,5-trifosfat). La rândul lor, PIP_2 şi PIP_3 induc activarea mai multor serin/treonin kinaze : kinaza PI3K dependentă (PDK-1), două izoforme ale protein kinazei C (PKC-ζ şi PKC-λ), precum şi Akt (produsul proto-oncogenei Akt), care mai este denumită şi protein kinaza B (PKB). Există trei izoforme ale Akt/PKB : Akt/PKB-α (exprimată majoritar în muşchii scheletici), Akt/PKB-β (în adipocite) şi

Akt/PKB-γ. PIP_2 şi PIP_3 se fixează pe domeniul PH al Akt, ceea ce conduce la o schimbare de conformaţie; Akt este ulterior fosforilată de către PDK-1 şi probabil de asemenea de către o altă kinază. Astfel activată, Akt pare să se localizeze în veziculele conţinând GLUT-4, provocând translocarea acestora printr-un mecanism încă necunoscut. În plus, activarea Akt de către insulină stimulează glicogenogeneza hepatică şi musculară, prin inactivarea glicogen sintazokinazei 3 (GSK-3), o enzimă cu proprietatea de a inhiba glicogen sintaza. Akt, prin diferiţi intermediari precum mTOR sau p70s6k, stimulează de asemenea sinteza proteică şi reglează expresia anumitor gene (IGF binding protein 1, fosfo-enolpiruvat carboxikinaza [PEPCK], glucozo-6-fosfataza), prin fosforilarea factorilor de trancripţie din familia FOX (*Forkhead box proteins* sau proteine FOX), precum FKHR;

- **Grb2** este o proteină adaptator asociată cu o scurtă secvenţă de aminoacizi foarte bogată în prolină a SOS (*son of sevenless*), care este un important factor de schimb nucleotid guanidinic (GEF - *guanine nucleotide exchange factor*). Ancorarea Grb2 la IRS provoacă activarea Ras (proteină mică posedând activitate GTP-azică) şi legarea acesteia la Raf. Activarea Raf declanşează cascada kinazelor MAP (*mitogen-activated protein kinases* – MAPK), ducând la activarea creşterii şi diferenţierii anumitor celule.

Calea de activare prin proteina Shc

Shc este o proteină adaptator, care conţine un domeniu SH_2, un domeniu PTB şi o regiune centrală omoloagă colagenului. Deşi este şi ea un substrat al kinazei receptorului pentru insulină, Shc, spre deosebire de IRS, nu conţine domeniu PH. Activarea Shc (fosforilarea tirozinei de către receptorul activat) provoacă legarea sa de Grb2, care ulterior se leagă la SOS şi activează în final cascada MAPK (a se vedea mai sus).

Calea de activare prin inozitol fosfat glicani (IPG)

Receptorul pentru insulină activat poate stimula, prin intermediul unei proteine G, una sau mai multe glicozil-fosfatidil inozitol (GPI) fosfolipaze membranare, generând astfel inozitol fosfat glicani (IPG), a căror internalizare s-ar putea efectua prin intermediul caveolelor (mici buzunare sau invaginaţii ale membranei citoplasmatice, cu talia între 50 şi 100 nm, care participă la procesul de endocitoză). Diverse molecule implicate în transducerea

semnalului sunt prezente în caveole. Două molecule de IPG produse în acest mod par a fi implicate în transmiterea semnalului :

- *chiro*-IPG care stimulează sinteza de glicogen, precum şi activitatea piruvat dehidrogenazo fosfatazei (PDH), enzimă ce controlează activitatea PDH;
- *myo-IPG* care inhibă adenilat ciclaza şi, în consecinţă, protein kinazele dependente de AMP ciclic (AMPc). În adipocite, *myo*-IPG creşte lipogeneza stimulând activitatea acetil CoA carboxilazei.

IPG ar putea de asemenea, într-o manieră indirectă, să fosforileze IRS-1 şi PI3K.

Calea de activare prin CAP-Cbl

CAP (*c-Cbl-associated protein*) este o proteină adaptator care se poate fixa deopotrivă de produsul proto-oncogenei Cbl şi de receptorul pentru insulină. Cbl este astfel recrutat de către proteina CAP către receptorul pentru insulină activat, ceea ce provoacă tirozin-fosforilarea Cbl şi formarea unui complex Cbl-CAP. Acest complex migrează la nivelul caveolelor, unde se asociază cu flotilina, o proteină caveolară. Noul complex format induce translocarea GLUT-4, printr-un mecanism încă necunoscut care implică activarea TC10, o mică proteină GTPazică, prin intermediul CrkII-C3G (complex format din CrkII, proteină adaptator mică, şi C3G, factor de schimb nucleotid guanidinic). Importanţa fiziologică a acestei căi de semnalizare descoperite recent, cale independentă de IRS/PI3K, rămâne de stabilit în viitor. Promotorul genei CAP este controlat de către PPAR-γ (*peroxisome proliferator activated receptor*) ; activarea PPAR-γ de către tiazolidindionă stimulează transcripţia CAP.

Reglarea transducerii semnalului

Mai multe mecanisme intervin pentru reglarea căii de semnalizare a insulinei. În urma legării sale de insulină, receptorul este internalizat în veziculele endocitozei, unde insulina este separată şi degradată, în timp ce receptorii sunt reciclaţi. Hiperinsulinemia care însoţeşte rezistenţa la insulină (atât cât este permis de capacitatea secretorie a celulelor β) provoacă un fenomen de inhibiţie sau reglare negativă (*down-regulation*), manifestat prin degradarea receptorilor în veziculele de endocitoză şi prin diminuarea numărului acestora la suprafaţa celulară.

Anumite tirozin fosfataze membranare, prin defosforilarea receptorului pentru insulină, sunt capabile să îl inactiveze. La şoareci, absenţa proteinei tirozin fosfatază 1B (PTP-1B) cauzează o creştere a sensibilităţii la insulină. Tirozin fosfataza SHP-2, implicată în transducerea semnalelor anumitor factori de creştere (IGF-1, EGF etc.) şi ale citokinelor, prin activarea cascadei MAPK după legarea sa la complexul Gbr2-SOS, ar putea de asemenea juca un rol în reglarea semnalului. Datorită domeniului său SH_2, SHP-2 se leagă de anumite fosfotirozine ale IRS-1, inhibându-i astfel activitatea. Şoarecii transgenici exprimând o SHp-2 inactivată prezintă o insulinorezistenţă. Acest rol ar putea părea paradoxal, de vreme ce defosforilarea este menită să inhibe IRS-1. Bazele biochimice ale acţiunii SHP-2 rămân aşadar de stabilit în viitor.

Altă fosfatază ce joacă un rol probabil în reglarea semnalului insulinic, SHIP-2 (inozitol 5-fosfatază cu domeniu SH_2) catalizează în mod normal conversia PIP_3 în PIP_2. La şoareci, inactivarea heterozigotă a genei SHIP-2 măreşte insulinosensibilitatea.

O altă cale de reglare este constituită din serin/treonin kinazele care fosforilează receptorul şi IRS-1 la nivelul reziduurilor serină, ceea ce, contrar fosforilărilor la nivelul tirozinei, inhibă activitatea. Aceste kinaze (ca de exemplu PKC-ζ), dintre care unele sunt în mod indirect stimulate de către insulină, ar putea de asemenea juca un rol de retro-acţiune negativă. Totuşi, acţiunea acestor kinaze intracelulare nu este univocă: protein kinaza B (PKB) fosforilează IRS-1 la nivelul reziduurilor de serină, ceea ce prezervă activitatea IRS-1 prin protecţie împotriva acţiunii rapide a tirozin fosfatazelor.

Astfel, este evident faptul că numeroase mecanisme pot modula cascade de reacţii ce decurg din fixarea insulinei la receptorul său. În plus, diversele căi de activare descrise mai sus prezintă între ele numeroase interacţiuni, făcând tot mai dificilă înţelegerea rolului precis al fiecărei molecule.

Trebuie de asemenea menţionat faptul că translocarea GLUT-4 poate fi efectuată din punct de vedere fiziologic pe o cu totul altă cale, independentă de insulină, declanşată de exerciţiul fizic. Contracţia musculară este însoţită de o creştere a nivelului de AMPc, ce poate stimula AMPK (*AMP-activated protein kinase*) care, printr-un mecanism puţin cunoscut implicând formarea de monoxid de azot, provoacă translocarea GLUT-4. Metformina, un hipoglicemiant utilizat în tratamentul diabetului de tip 2, acţionează prin stimularea AMPK

Determinarea glicemiei bazale

Determinarea glicemiei bazale reprezintă primul test în cazul unei suspiciuni a dereglării homeostaziei glucozei. Dimineața, se recoltează *à jeun* sânge venos, arterial sau capilar şi se dozează glicemia prin metode cunoscute. Concentrația plasmatică a glucozei este în medie cu 10 până la 15 % mai crescută decât cea din sângele total, deoarece un anumit volum de globule roşii conține mai puțină apă decât acelaşi volum de plasmă. Această diferență nu este foarte semnificativă la valori normale, în afara cazului de interpretare a testelor de toleranță la glucoză.

In vitro, globulele roşii continuă să consume glucoza, ceea ce impune necesitatea de a recolta proba în tuburi conținând fluorură de sodiu ca inhibitor al glicolizei, dacă analiza se va face ulterior.

La ora actuală, glicemia este adesea determinată folosind bandelete reactive. Sângele capilar depus pe acestea determină o modificare a culorii, proporțională cu concentrația în glucoză. După spălare, concentrația este citită în raport cu o gamă etalon (scară de colorare) sau, mai precis, cu un aparat miniaturizat pentru citirea glicemiei – glucometru.

Glucometrele sunt deseori utilizate pentru urmărirea glicemiei şi au revoluționat de altfel monitorizarea diabetului, oferind atât pacienților cât şi medicilor posibilitatea de determinare a glicemiei la domiciliu. Însă aceşti reactivi, chiar utilizați împreună cu aparate performante, nu trebuie să servească pentru stabilirea diagnosticului de diabet. Întotdeauna este recomandată efectuarea analizele de laborator. Valorile normale ale glicemiei sunt cuprinse pentru sângele venos între 60-115 mg %.

Dozarea hemoglobinei glicozilate

În cazul hiperglicemiei, moleculele proteice suferă un proces de glicozilare ne-enzimatică, proporțional cu creşterea concentrației de glucoză. Hemoglobina glicozilată cuprinde mai multe fracțiuni denumite A1a, A1b, A1c, corespunzătoare migrării lor cromatografice. Valoarea normală a hemoglobinei A este de circa 8 %, iar pentru hemoglobina HbA1c este cuprinsă între 6-9 %. O valoare crescută peste 15 % indică un dezechilibru metabolic important.

Hiperglicemia provocată pe cale orală sau testul de încărcare cu glucoză administrată oral (TTGO)

În condițiile unei glicemii *à jeun* normale, existența unui diabet latent poate fi depistată prin acest test.

TTGO se efectuează astfel: cu trei zile înainte de testare se indică o alimentație cu cel puțin 150 g de glucide (deci nu post sau cură de slăbire); în ziua TTGO, se recoltează sânge venos pe anticoagulant pentru dozarea glicemiei à jeun din plasma rezultată; imediat după aceasta, subiectul va trebui să ingere o soluție din 75 g de glucoză pulvis dizolvată în 300 ml de apă (concentrație 25 %) în decurs de 5 minute. După două ore se repetă prelevarea de sânge în acelaşi mod.

Interpretarea rezultatelor se face în funcție de valoarea glicemiei la 2 ore:

- glicemie < 140 mg % = normal
- glicemie 140-199 mg % = scăderea toleranței la glucoză (STG)
- glicemie ≥ 200 mg % = diabet zaharat

Dozarea insulinemiei şi a peptidului C

Pentru aceste teste se folosesc metode radioimunologice.

Valoarea normală a insulinemiei este de peste 10μU/ml. Dozarea insulinei are importanță mai ales în diagnosticul hipoglicemiilor.

Pentru aprecierea secreției pancreatice se poate doza peptidul C şi se poate calcula sensibilitatea la insulină prin scorul HOMA: glicemia (mmol/l) x insulinemia (μU/ml) / 22,5.

Glicozuria

Glicozuria semnifică de obicei o hiperglicemie ce depăşeşte concentrația de 180 mg %. Este utilă mai ales în aprecierea eficienței tratamentului.

Glicozuria constantă la un bolnav cu hiperglicemie bazală ridicată arată un diabet zaharat manifest. O glicemie peste 180 mg % fără glucozurie poate indica existența unei nefropatii diabetice.

Dozarea corpilor cetonici

In sânge se acumulează corpii cetonici (acid β-hidroxibutiric, acid acetilacetic, acetona), ceea ce determină scăderea rezervei alcaline (acidoza compensată) şi a pH-ului sanguin (acidoza decompensată). Dozarea corpilor cetonici este utilă în echilibrarea metabolică a diabetului zaharat.

Alte analize

Se pot asocia analize complementare legate de:

- metabolismul lipidic (dislipidemii);

- metabolismul protidic;

- metabolismul hidroelectrolitic (se pierde Na, K datorita poliuriei);

- metabolismul acidobazic.

DIABETUL ZAHARAT

Etiologie şi patogeneză

Diabetul zaharat (DZ) este o patologie metabolică ce se caracterizează printr-o hiperglicemie cronică determinată de o deficienţă de secreţie sau/şi de acţiune a insulinei. Consecutiv hiperglicemiei, deficitului de insulină şi hiperinsulinemiei (ca manifestare secundară a insulino-rezistenţei) apar şi perturbări ale metabolismului protidic, lipidic şi hidroelectrolitic, conducând în final la o tulburare complexă a metabolismului energetic al organismului.

Hiperglicemia şi celelalte anomalii asociate conduc la complicaţii acute şi cronice grave, care determină reducerea duratei şi a calităţii vieţii pacienţilor cu diabet zaharat.

Diabetul reprezintă o patologie frecventă, cu o prevalenţă de aproximativ 1-2 % în lumea occidentală. El poate fi secundar altor patologii, cum ar fi pancreatita cronică, poate surveni în urma unei chirurgii a pancreasului sau atunci când are loc o creştere a secreţiei hormonilor antagonişti ai insulinei (spre exemplu, sindromul Cushing şi acromegalia).

Diabetele secundare sunt totuşi puţin frecvente. Cea mai mare parte a cazurilor de diabet zaharat sunt primare, adică neasociate altor situaţii patologice. Există două tipuri de diabet: diabetul de tip 1 şi diabetul de tip 2.

Diabetul de tip 1

Diabetul de tip 1 se defineşte prin distrugerea celulelor β ale insulelor Langerhans, ceea ce conduce de obicei la o carenţă completă în insulină. Acest tip regrupează în jur de 10 % din totalul pacienţilor cu diabet zaharat. Administrarea insulinei exogene este indispensabilă pentru supravieţuire; în lipsa sa, pacienţii decedează în scurt timp.

Diabetul de tip 1 survine într-o formă acută, cu o simptomatologie ce se manifestă pe perioada mai multor zile sau chiar săptămâni. Apariţia simptomelor este precedată de o fază de „prediabet" ce se întinde pe parcursul mai multor luni, în cursul cărora putem depista tulburări de creştere (la copil), o diminuare a răspunsului insulinei la glucoză, diferite anomalii imunologice, niveluri ale glicemiei (*à jeun* şi/sau la 2 ore în cursul testului de toleranţă la glucoză oral - TTGO) peste cele considerate normale, dar sub cele necesare diagnosticului de diabet zaharat. Din cadrul prediabetului fac parte:

a) modificarea glicemiei bazale (MGB), definită prin glicemie *à jeun* de 110-125 mg %. Asociaţia Americană de Diabet (ADA) şi Federaţia Internaţională de Diabet (IDF) au propus, în 2004, modificarea criteriilor de diagnostic a MGB la 100-125 mg %, propunere ce nu a fost adoptată, încă, de OMS;

b) scăderea toleranţei la glucoză (STG), definită printr-o glicemie la 2 ore în timpul testului de toleranţă la glucoză oral (TTGO) de 140-199 mg %.

Persoanele cu MGB şi/sau STG au risc crescut de a dezvolta DZ, riscul lor cardiovascular fiind crescut, asemănător cu al celor cu DZ.

Diabetul de tip 1 este subdivizat în tipul 1 autoimun (aproximativ 90 % din cazuri) şi tipul 1 idiopatic. Diabetul de tip 1 autoimun, mai demult denumit DID sau diabetul tânărului, rezultă dintr-o distrugere de natură autoimună a celulelor β ale insulelor Langerhans. Anumite forme de tip 1 nu au o etiologie cunoscută (absenţa semnelor de autoimunitate) şi sunt prin urmare denumite idiopatice. Aceste forme destul de rare sunt întâlnite mai ales la diabeticii de origine africană sau asiatică.

Etiopatogenia diabetului de tip 1 autoimun

Caracterul autoimun al maladiei este atestat prin :

- observarea la nivelul insulelor Langerhans a unui infiltrat (numit insulită) de celule mononucleate constituite din limfocite T CD4+ şi CD8+, macrofage şi limfocite B ;
- punerea în evidenţă a autoanticorpilor specifici diferiţilor constituenţi ai celulelor β ;

- prezența limfocitelor T a căror specificitate antigenică este dirijată împotriva aceloraşi constituenți ai celulelor β ;
- asocierea preferențială a acestui diabet cu anumite molecule ale sistemului HLA (a se vedea mai jos).

Fiind o patologie autoimună, diabetul de tip 1 este prin urmare consecința directă a unei dereglări a toleranței sistemului imun față de antigenele self. Cu toate acestea, în ciuda numeroaselor cercetări ce au fost consacrate acestui subiect, multe întrebări au rămas până la ora actuală fără răspuns. Prima dintre acestea se referă la mecanismul pierderii toleranței; au fost evocate două ipoteze principale: pe de o parte, ar putea fi vorba de o deficiență a selecției negative a clonelor puternic autoreactive, la nivelul organelor limfoide primare (timus, măduva hematopoietică); pe de altă parte, este posibilă o pierdere a toleranței periferice printr-o deficiență la nivelul unuia sau a mai multor procese (deleție clonală, anergie, supresie, ignoranță etc.) care în mod normal sunt sursa non-reactivității limfocitelor T autoreactive.

A doua mare întrebare se referă la tipurile de autoantigene împotriva cărora este dirijată reacția imunitară. A priori, există numeroase autoantigene împotriva cărora se dezvoltă o activare a sistemului imun în cursul diabetului de tip 1. Astfel, în acest tip de diabet pot fi găsiți numeroşi autoanticorpi: anticorpi anti-celule ale insulelor Langerhans, anti-glutamat decarboxilază, anti-insulină, anti-IA-2 (tirozin fosfatază), etc. Totuşi, numeroase necunoscute persistă: autoantigenele recunoscute nu au fost în totalitate definite până la ora actuală; de altfel, multe din aceste autoantigene nu sunt specifice celulelor β, putând deci fi exprimate de către alte țesuturi pentru care nu a fost raportată dezvoltarea vreunei reacții imune. În plus, nici un studiu nu a putut demonstra rolul efector al acestor autoanticorpi în distrugerea celulei β, nici nu a putut pune în evidență autoantigenul împotriva căruia toleranța imunitară ar fi deficitară prioritar.

Genetica diabetului de tip 1 autoimun

În majoritatea cazurilor, diabetul de tip 1, ca şi cel de tip 2 (a se vedea mai departe), reprezintă o maladie multifactorială, numeroase studii fiind şi în prezent consacrate precizării rolului respectiv al fiecăruia din aceşti factori etiologici, cu precădere factorii genetici şi cei de mediu (virusuri şi alți agenți patogeni, alimentație).

Capacitatea diabetului de tip 1 de a se transmite ereditar este indubitabilă: concordanța între gemenii monozigoți este de 30-50 % (5-10 % pentru cei dizigoți), iar

agregarea familială estimată prin indicele LS (raportul între prevalența unei afecțiuni în familiile conținând un subiect afectat și prevalența în populația generală) este de 15.

Primii markeri genetici ai diabetului de tip 1 evidențiați încă din anii 1970 au fost genele complexului major de histocompatibilitate (*Major Histocompatibility Complex* – MHC) situate pe brațul scurt al cromozomului 6, și mai ales genele sistemului HLA (*Human Leukocyte Antigen*).

Complexul HLA este compus dintr-un cluster de mai bine de 128 de gene, dintre care 40 % posedând funcții „imunitare", regrupate în trei regiuni principale care sunt denumite gene de clasă I, II și III. Aceste gene prezintă dubla particularitate de a fi în același timp extrem de polimorfice (locusul HLA-B exprimă cel puțin 400 de variante alelice diferite) și de a prezenta un puternic dezechilibru de linkage. Principalele locusuri asociate diabetului de tip 1 corespund la HLA-B (gene de clasă I) și la HLA-DR, DQ și DP (gene de clasă II). Pentru locusul HLA-B, este cazul alelelor B8, B15 și B18. În cazul genelor de clasă II, studiul alelic pare puțin mai complicat, în măsura în care fiecare moleculă de clasă II are o structură proteică heterotetramerică formată din două catene α și două catene β. Primul locus studiat a fost locusul DR, cel mai simplu de vreme ce doar catena β este polimorfă. Astfel a fost pusă în evidență o asociere a diabetului cu prezența alelelor de tip DR3 și DR4: 60 % din subiecții diabetici sunt DR3, 60 % sunt DR4 și 30 % sunt DR3/DR4. Pentru a face o comparație, în populația generală frecvența subiecților DR3/DR4 nu depășește 1 %.

Ulterior, a fost evidențiat foarte clar faptul că alelele HLA-B8 sau B15, evocate puțin mai sus, nu joacă un rol direct ca gene de susceptibilitate, dar că frecvența lor la subiecții diabetici rezultă în mod principal dintr-un dezechilibru de linkage cu alelele DR3 și DR4 ale HLA-DR. Cu toate acestea, dacă alelele DR3 și DR4 joacă un rol independent de alte gene în susceptibilitatea la diabet, acest rol pare restrâns. Frecvența alelelor DR3 și DR4 rezultă mai degrabă, ca și în cazul precedent, dintr-un dezechilibru de linkage cu alte gene de susceptibilitate, în particular genele locusului DQ, pentru care studiul serologic de specificitate a lăsat progresiv locul unui studiu mai precis al alelelor, făcând apel la tehnicile biologiei moleculare. Acest lucru a permis punerea în evidență a alelelor de susceptibilitate și a celor de non-susceptibilitate. Astfel, alelele DQA1 de susceptibilitate sunt 301, 401, 501 și 601, iar cele de non-susceptibilitate sunt 101, 102, 103, 104, 201 și 304. În ceea ce privește alelele DQB1, 201, 302, 501, 502 și 504 sunt alele de susceptibilitate, iar 301, 303, 401, 402, 503, 601 și 602 sunt alelelor de non-susceptibilitate. Alelele de susceptibilitate pot să varieze și în funcție de diferite etnii. Secvențierea tuturor acestor alele a permis punerea în evidență a faptului că alelele de susceptibilitate codifică întotdeauna pentru o arginină în poziția 52 a

catenei α, iar acidul aspartic este întotdeauna absent din poziția 57 a catenei β. Din contră, alelele de non-susceptibilitate corespund întotdeauna absenței unei arginine în poziția 52 a catenei α, prezentând întotdeauna un acid aspartic în poziția 57 a catenei β.

Mai recent, şi alte regiuni ale clusterului de gene HLA au fost implicate în susceptibilitatea la diabetul de tip 1; este cazul regiunii lărgite de clasă I (marker D6S223) şi a regiunii II apropiate în acelaşi timp de markerul D6S273 şi de locusul DP.

Per ansamblu, regiunea HLA (sau regiunea IDDM1) contribuie în procent de 30-50 % la riscul familial de a dezvolta diabet. Având în vedere riscul relativ de aproximativ 15 % pentru o rudă apropiată a unui diabetic de tip 1 de a dezvolta ea însăşi maladia, riscul acestui diabet este de 5-6 ori mai mare la purtătorii unui haplotip HLA de susceptibilitate. În aceste condiții, este evident faptul că alte regiuni de pe cromozom participă la riscul genetic de diabet de tip 1. Căutarea unor astfel de regiuni a permis evidențierea regiunii genei insulinei (polimorfism al regiunii în amont sau în 5') pe cromozomul 11p15 (IDDM2), care contribuie cu aproximativ 10 % la riscul genetic de a dezvolta diabet. Mai recent, şi mai ales după 1994, mai multe abordări de tipul „întregul genom" au permis suspectarea rolului jucat de alte locusuri în predispoziția la diabet. Este vorba de locusurile IDDM3 (15q26), IDDM4 (11q3), IDDM5 (6q25), IDDM6 (18q21), IDDM7 (2q31), IDDM8 (6q27), IDDM9 (3q21-q25), IDDM10 (10p13-q11), IDDM11 (14q24.3), IDDM12 (2q33), IDDM13 (2q34), IDDM14 (?), IDDM15 (6q21), şi de gena glucokinazei pe cromozomul 7p.

Din nefericire, multe din aceste studii au fost efectuate pe grupuri restrânse, conducând la foarte numeroase „falsuri pozitive". Prin utilizarea unor criterii semnificative mult mai severe, alte studii recente tind de fapt să elimine cea mai mare parte a acestor localizări şi de a reține în mod formal ca regiuni de susceptibilitate locusurile IDDM1, IDDM2 şi IDDM15.

Diabetul zaharat tip 2

Diabetul zaharat tip 2 include 90-95 % dintre toți pacienții cu diabet zaharat.

Diabetul de tip 2 (mai demult denumit diabet non insulinodependent sau diabet al adultului) este definit prin hiperglicemie cronică, prin prezența unei deficiențe de acțiune a insulinei (insulinorezistență) şi printr-o deficiență de secreție a insulinei. Cea mai mare parte a diabeticilor de tip 2 sunt tratați prin regim alimentar, în asociere sau nu cu antidiabetice orale.

Diabetul tip 2 are diverse forme de severitate, de la cazuri uşoare, cu glicemii à jeun

puţin crescute (<140-150 mg %), la cele moderate şi, respectiv, severe (cu glicemii >300 mg %), la care se impune a fi folosită insulinoterapia.

De remarcat este, de asemenea, că diabetul zaharat de tip 2 se agravează pe parcursul evoluţiei prin scădere progresivă a insulinosecreţiei, ceea ce face ca, după 10-15 ani de durată a bolii, insulinoterapia să fie necesară la aproape 70- 80 % dintre cazuri.

Diabetul de tip 2 evoluează într-un mod mai mult cronic la vârste de 50 de ani sau la subiecţi mult mai vârstnici (din ce în ce mai des este diagnosticat şi la tineri obezi). Prevalenţa diabetului de tip 2 creşte odată cu vârsta şi atinge mai mult de 10 % din populaţia cu vârstă de 75 de ani.

Diabetul de tip 2 cuprinde forme care merg de la o insulinorezistenţă predominantă asociată unei carenţe relative în insulină, până la o insulinopenie predominantă asociată unei insulinorezistenţe moderate.

Insulinorezistenţa este un element major al fiziopatologiei diabetului de tip 2. Totuşi, insulinorezistenţa poate fi prezentă şi la indivizi nediabetici (deşi cu mari şanse de a deveni diabetici).

Termenii de „diabet insulino-dependent" şi „diabet juvenil" (pentru diabetul de tip 1) şi diabet „non insulinodependent" şi „diabet de maturitate" (pentru diabetul de tip 2) sunt demodaţi. Se pare că anumiţi pacienţi tineri prezintă un diabet de tip 2, în timp ce aproximativ 10 % din pacienţii care dezvoltă un diabet după vârsta de 25 de ani, prezintă o formă de debut mult mai tardiv şi mult mai lent cunoscut şi sub numele de diabet auto-imun latent al adultului (*latent autoimmune diabetes of adulthood* – LADA). Pacienţii de tip LADA pot fi clasaţi în cadrul diabetului de tip 2. Oricum, dacă comparăm adevăraţii diabetici de tip 2, remarcăm faptul că ei dezvoltă patologia la vârste mult mai tinere, sunt rareori supraponderali, au markeri serici de auto-imunitate, iar adesea dacă sunt trataţi de la debut cu succes prin regim singur sau asociat cu antidiabetice orale, dezvoltă o insulinorecurenţă mai ales în anul consecutiv diagnosticării.

Etiopatogenia diabetului de tip 2

Fiziopatologia acestei forme de diabet este obiectul a numeroase lucrări care încă lasă locul la multe necunoscute şi dezbateri. Explorarea mecanismelor care conduc la diabetul de tip 2 se loveşte de mai multe probleme: această formă de diabet este heterogenă şi nu poate fi explicată printr-o singură dezordine metabolică; diagnosticul este adesea pus cu întârziere, uneori după câţiva ani de la începutul maladiei, ceea ce face dificilă aprecierea stării metabolice care precedă apariţia diabetului (de unde necesitatea unor studii longitudinale de

lungă durată); în fine, anumiţi factori de mediu bine cunoscuţi interacţionează probabil cu factori genetici care rămân încă neidentificaţi.

Una din principalele întrebări dezbătute se referă la cronologia insulinorezistenţă / insulinodeficienţă. Pe acest aspect, majoritatea autorilor privilegiază dezvoltarea într-o primă etapă a insulinorezistenţei, ea însăşi consecinţă, în cea mai mare parte a cazurilor, a unei obezităţi care conduce la hiperinsulinemie compensatoare. Această primă fază, normoglicemică, poate dura peste zece ani, timp în care insulinorezistenţa se dezvoltă într-o manieră silenţioasă.

În a doua fază apare diminuarea funcţiei secretoare a celulelor β, creşterea producţiei hepatice de glucoză (cel mai probabil datorată creşterii nivelului acizilor graşi liberi (AGL), sau a unei hiperglucagonemii), precum şi o creştere a insulinorezistenţei. Aceste trei elemente reunite nu mai permit menţinerea unei homeostazii a glucozei, conducând la intoleranţă la glucoză (ITG), şi ulterior la diabet de tip 2. Cu toate acestea, anumite persoane pot să rămână la stadiul IGT, sau să evolueze de la stadiul IGT la normoglicemie. Creşterea producţiei hepatice de glucoză pare a fi un element mai tardiv, care se manifestă în momentul trecerii de la stadiul IGT la stadiul diabet tip 2.

În mod contrar, anumiţi autori plasează diminuarea insulinosecreţiei (alterarea fazei precoce) ca o deficienţă primară. În acest caz, insulinorezistenţa devine o consecinţă a perturbărilor metabolice create prin alterarea secreţiei insulinice (glicemie postprandială de concentraţie şi durată crescute). Unele studii arată mai degrabă concomitenţa acestor fenomene. Toate aceste ipoteze nu se exclud între ele, diabetul de tip 2 fiind cel mai probabil heterogen; fiecare din ele se aplică anumitor forme ale maladiei.

În mod normal, după o masă, homeostazia glucidică este menţinută prin diminuarea la jumătate a producţiei hepatice de glucoză şi prin creşterea captării sale tisulare, stimulată de insulina secretată ca răspuns la hiperglicemie. Muşchii sunt principalele ţesuturi responsabile de această captare indusă de insulină; glucoza este în acest caz stocată sub formă de glicogen, calea oxidativă fiind de altfel puţin modificată. În aceste condiţii, sinteza glicogenului muscular reprezintă partea majoră a captării tisulare de glucoză şi aproape totalitatea metabolismului său non oxidativ. La un diabetic de tip 2, producţia hepatică de glucoză este mai puţin inhibată, iar sinteza de glicogen puternic diminuată. Insulinorezistenţa diabeticului de tip 2 este în principal atribuită acestei diminuări a sintezei glicogenului muscular ca răspuns la insulină. Astfel, în condiţii ce simulează starea postprandială (hiperglicemie, hiperinsulinemie), diabeticul de tip 2 prezintă în medie o diminuare de 60-100 % a sintezei

musculare de glicogen. Studii recente arată că acest fenomen rezultă dintr-o diminuare a translocației de GLUT-4, şi deci a transportului intracelular de glucoză.

Pe parcursul evoluției diabetului de tip 2, secreția de insulină se deteriorează: primele defecte sunt pierderea fazei precoce a insulinosecreţiei ca răspuns la glucoză (dar nu şi la factori farmacologici), alterarea pulsatilității acestei secreții şi creşterea pro-insulinemiei. În mod normal, secreția insulinei prezintă două ritmuri circadiene, unul rapid cu amplitudine mică (variind între 17-30 % din concentrația plasmatică) şi periodicitate de 5 minute, şi unul mai lent, cu o periodicitate de 90 de minute şi de o amplitudine mai mare. Alterarea pulsatilității survine în faza precoce, imediat ce intervine intoleranța la glucoză (IGT). Diminuarea secreţiei de insulină se continuă ulterior, atingând toate fazele răspunsului insulinic şi putând merge până la o carență severă în insulină.

Mai multe ipoteze tind să explice deteriorarea capacității secretorii a celulelor β: glucotoxicitatea (hiperglicemia cronică ce inhibă secreția de insulină şi sporeşte apoptoza), lipotoxicitatea (efecte datorate creşterii trigliceridelor şi acizilor graşi liberi – AGL), sau amiloza pancreatică (depuneri amiloide formate în principal din amilină, care ar putea juca un rol important). Într-adevăr, în jur de 70 % din diabeticii de tip 2 prezintă o amiloză pancreatică. Datorită faptului că amilina este secretată într-o manieră paralelă celei a insulinei, hiperinsulinemia rezultată din insulinorezistență ar putea provoca o creştere a amilinei, favorizând depunerea acesteia sub formă de fibrile amiloide. Hiperglicemia ar juca un rol important în acest proces, crescând potențialul amiloid al amilinei.

Problema masei celulare β în cursul diabetului de tip 2 rămâne în dezbatere: unii autori au observat o pierdere, corelată amilozei, de 20 până la 50 % din celulele β ale insulelor Langerhans (cam 1 milion - 1,5 milioane de celule într-un pancreas normal), în timp ce pentru alți autori, numărul celulelor β variază foarte puțin, ceea ce ar implica în acest caz o alterare funcțională a celulei. Totuşi, se pare că o diminuare a numărului celulelor β, fie ea chiar importantă, nu ar fi suficientă pentru a provoca o hiperglicemie; de fapt, chiar dacă există o pierdere a masei totale a celulelor β, diminuarea secreției de insulină provine majoritar dintr-o alterare funcțională a celulei, cele două fenomene putând fi datorate, cel puțin în parte, depunerilor amiloide.

Dacă în acest fel se pare că insulinorezistența este fundamentală în fiziopatologia diabetului de tip 2, originea sa rămâne destul de puțin înțeleasă, în ciuda progreselor efectuate în ultimii ani. Apariția insulinorezistenței este de altfel puternic asociată obezității (cu precădere dezvoltării de țesut adipos visceral) şi lipsei de exerciții fizice (a se vedea mai sus translocarea GLUT-4).

În populaţiile cu risc important de diabet (intoleranţă la glucoză datorată greutăţii), scăderea greutăţii şi a aporturilor totale de lipide (mai puţin de 30 % din calorii), cuplată unei creşteri a exerciţiului fizic, diminuează de o manieră importantă riscul de a dezvolta maladia. Sunt incriminate pe acest subiect mai multe mecanisme, însă rolul lor exact rămâne de stabilit mai cu precizie la oameni, un mare număr din studiile efectuate până acum referindu-se la şoareci.

Genetica diabetului de tip II

Ca şi în cazul diabetului de tip 1, transmiterea ereditară a diabetului de tip 2 este indubitabilă : concordanţa între gemeni monozigoţi este de 50 până la 80 %, iar indicele LS este de 10. Şi în acest caz este vorba de o patologie evident poligenică, caracterizată în plus prin asocierea unei anomalii a răspunsului insulinosecretor la glucoză cu o diminuare a sensibilităţii tisulare la efectele insulinei, ceea ce dovedeşte foarte clar dubla origine a acestei patologii. Explicarea patologiilor poligenice se sprijină pe ipoteza asocierii unui mare număr de variante de susceptibilitate ale numeroaselor gene candidate, gene considerate individual ca minore, neputând de unele singure conferi o susceptibilitate semnificativă. În aceeaşi măsură, este posibilă luarea în calcul a unor gene cu roluri determinante (gene „majore"), celelalte gene având rolul doar de a modula expresia şi evoluţia maladiei.

Din ansamblul de gene candidate ce au fost studiate până la ora actuală, sunt citate pe scurt mai jos acele gene pentru care au fost stabilite asocieri semnificative între diabetul de tip 2, pe de o parte, şi un polimorfism sau o mutaţie la nivelul genei corespunzătoare, pe de altă parte. Sunt importante următoarele: gena glucokinazei, gena receptorului pentru glucagon, gena IRS-1, gena glicogen sintazei, gena Rad, gena receptorului pentru sulfoniluree, gena pentru *fatty acid binding protein* 2, gena receptorului andrenergic β3, gena fosfoenolpiruvat carboxikinazei (PEPCK), gena codând pentru factorul *islet-brain 1*, gena factorului de transcripţie Pax4, gena codând pentru SHIP-2.

Mai recent, abordările de tipul „întregul genom" au permis punerea în evidenţă a legăturilor dintre diabetul de tip 2 şi cromozomii 2q şi 12q. Cele două locusuri caracterizate au fost denumite NIDDM-1 şi NIDDM-2. NIDDM-1 corespunde de fapt, aşa cum a fost demonstrat recent, unui polimorfism al unui singur nucleotid (*Single Nucleotide Polymorphism* – SNP) din gena codând pentru calpaina 10 (*calcium-activated neutral protease*), o cistein protează intracelulară non lizozomială. În rezumat, este foarte de dorit ca aceste cercetări să fie continuate, până la ora actuală nici o genă majoră de susceptibilitate

nefiind pusă clar în evidenţă cu privire la formele poligenice cele mai numeroase ale diabetului de tip 2.

Au fost identificate numeroase deficienţe monogenice în cadrul sub-categoriilor de diabet de tip 2, în special în formele ereditare dominante ce se dezvoltă la tineri (*maturity-onset diabetes of the young* – MODY sau diabetul de tip adult al tânărului). Mutaţiile pe care le regăsim cel mai frecvent în diabetul MODY afectează gena glucokinazei. Aceste mutaţii specifice sunt totuşi rare dacă considerăm diabetul de tip 2 în globalitatea sa, deoarece tendinţa generală este de natură poligenică iar noţiunea de ereditate nu este încă clar definită.

Fiziopatologie şi semne clinice

Manifestările clinice ale diabetului zaharat se împart în două categorii: cele direct legate de disfuncţia metabolică şi cele corespunzătoare complicaţiilor pe termen lung ale patologiei.

Hiperglicemia din diabetul zaharat rezultă în principal datorită creşterii producţiei hepatice de glucoză şi într-o măsură mai mică datorită unei scăderi a clearence-ului sanguin de glucoză. La nivel renal, glucoza filtrată este în mod normal complet reabsorbită prin tubii contorţi proximali, dar pentru glicemii superioare de 10 mmol/l, mecanismele de reabsorbţie sunt saturate şi glucoza apare în urină. Există variaţii interindividuale ale pragului renal. El este mult crescut la persoanele în vârstă şi mult mai scăzut la femeile gravide. Glicozuria determină o diureză osmotică ce creşte excreţia apei şi antrenează o creştere a osmolalităţii plasmatice, ceea ce stimulează la rândul său centrul setei. Diureza osmotică şi setea provoacă simptomele clasice de poliurie şi polidipsie. Aceste simptome sunt regăsite în diabetul insipid (dar glicemia este normală), hipercalcemie, hipokaliemie cronică, insuficienţă renală cronică şi pierderea excesivă de apă.

Dacă nu sunt tratate, aceste perturbări metabolice se agravează şi se poate ajunge la acidocetoză, comă hiperosmolară sau acidoză lactică.

Diagnosticul diabetului zaharat este pus pe seama hiperglicemiei. La un pacient cu o simptomatologie tipică, diabetul poate fi sugerat prin prezenţa glicemiei. În aceste condiţii, o dozare aleatorie de glucoză, realizată pe plasmă venoasă sau capilară, de 11,1 mmol/l şi mai mult (≥ 10 mmol/l pentru sângele venos), prezintă o valoare diagnostică. Aceeaşi importanţă are şi o dozare de glucoză *à jeun*, realizată pe plasma venoasă în valoare de 7,0 mmol/l şi mai

mult (≥ 6,1 mmol/l pentru sângele venos sau capilar). În absenţa simptomelor, aceste anomalii trebuie observate prin dozări repetate.

Chiar la pacienţii simptomatici, diabetul este puţin probabil dacă o dozare aleatoare de glucoză din plasma venoasă este inferioară valorii de 5,5 mmol/l (< 4,4 mmol/l pentru sângele venos sau capilar). Subiecţii care prezintă *à jeun* glicemii crescute dar care nu intră în normele de definiţie ale diabetului prezintă o stare de „hiperglicemie *à jeun*". Trebuie evaluat răspunsul acestora la o încărcare cu glucoză în scopul definirii dacă sunt diabetici sau nu.

La majoritatea pacienţilor suspectaţi de diabet, dozările menţionate permit punerea diagnosticului nefiind necesară examene suplimentare: acestea sunt indicate doar în cazul unei situaţii de dubiu. Protocolul testului de hiperglicemie provocată pe cale orală, aplicat în trecut presupunea prelevări sanguine la fiecare 30 de minute, timp de 2 ore. Criteriile actuale de diagnostic se bazează pe concentraţiile în glucoză *à jeun* şi la 2 ore după administrarea de glucoză; recoltările intermediare sunt lipsite de valoare diagnostică. Acest test poate de asemenea identifica o categorie de hiperglicemie numită intoleranţă la glucoză, care nu este echivalentă cu diabetul dar care reprezintă un stadiu pe parcursul trecerii de la o toleranţă glucidică normală la diabetul confirmat. Intoleranţa la glucoză reprezintă un risc de evoluţie spre diabet. Pacienţii ce prezintă o intoleranţă la glucoză trebuie să îşi modifice obişnuinţele alimentare şi modul de viaţă, fiind permanent urmăriţi medical. O parte din ei devin diabetici, iar o parte revin la o toleranţă glucidică normală. Se pare că aceşti pacienţi au un risc de infarct de miocard şi de accidente vasculare la fel ca şi diabeticii „adevăraţi", însă nu au crescut riscul de complicaţii microvasculare.

Principalele caracteristici ale diabetului de tip 1 şi 2 sunt schematizate în tabelul III.1.

Tabel III.1. Diabetul de tip 1 şi 2

CARACTERISTICI	DIABET DE TIP 1	DIABET DE TIP 2
Vârsta la debut	copii, tineri (sub 30 de ani)	adulţi, bătrâni (peste 40 de ani)
Apariţia	brutală	progresivă
Greutate corporală	normo sau subponderal	adesea obez (80%)
Pierderea în greutate	mare	rară
Tendinţa la cetoză	mare	rară, dar posibilă
Insulina plasmatică	scăzută sau absentă	adesea normală, uneori crescută
Istoricul familial de diabet	puţin frecvent	frecvent
Asociere la HLA	DR3, DR4	niciuna
ICA şi anti-GAD	da	nu
Asociere cu alte boli autoimune	da	nu
Tratament cu insulină	indispensabil	rar (diabet zaharat insulinonecesitant)

SINDROMUL INSULINOREZISTENT

Organizaţia mondială a sănătăţii (OMS) consideră de importanţă majoră clasificarea, diagnosticul şi tratamentul persoanelor suferind de hipertensiune arterială (HTA), de obezitate abdominală (de tip android, spre deosebire de tipul ginoid având o repartiţie a grăsimilor în partea inferioară a corpului) şi de dislipidemie, manifestări acompaniate sau nu de hiperglicemie.

Mai multe studii epidemiologice, dintre care cel al lui Framingham publicat în 1982, au demonstrat foarte clar că toţi aceşti factori contribuie într-o manieră sinergică la creşterea mortalităţii cardiovasculare. Încă din 1956, Jean Vague a făcut asocierea, la bărbaţi, a adipozităţii abdominale (evaluată prin raportul diametru talie/diametru şolduri) cu predispoziţia la diabet, la ateroscleroză şi la hiperuricemie. Studiile epidemiologice ulterioare au relevat rolul predictiv al hiperinsulinemiei în apariţia problemelor cardiovasculare şi a altor patologii legate de îmbătrânire.

În 1988, Reaven făcea legătura între ansamblul acestor anomalii metabolice şi insulinorezistenţa, definind astfel sindromul X sau sindromul de insulinorezistenţă : asocierea unei obezităţi, a unei intoleranţe la glucoză (IGT) sau a unui diabet de tip 2, a unei hiperinsulinemii, a unei hipertensiuni arteriale (HTA), a unei hipertrigliceridemii şi a unei hipo-HDL-colesterolemii. Ipoteza lui Reaven, ce conferea insulinorezistenţei (şi hiperinsulinemiei rezultante) originea acestor perturbaţii care conduc la creşterea riscului maladiilor cardiovasculare, a fost confirmată ulterior de mai multe studii epidemiologice.

Definiţia sindromului X, la ora actuală denumit sindromul insulinorezistenţei (sau sindromul plurimetabolic), a evoluat puţin după 1988, prin caracterizarea importanţei repartiţiei grăsimilor şi prin adăugarea de alţi markeri metabolici precum prezenţa unei micro-albuminurii. Rolul obezităţii abdominale (ţesut adipos visceral) a fost deja subliniat. Obezitatea este în general măsurată prin indicele de masă corporală (IMC), care nu ţine însă cont de repartiţia ţesutului adipos, mai bine exprimată prin raportul diametru talie/diametru şolduri. În realitate, creşterea masei de ţesut adipos visceral (spre deosebire de ţesutul adipos sub-cutanat) este mai bine corelată cu insulinorezistenţa şi cu complicaţiile cardiovasculare decât obezitatea măsurată prin IMC.

Nu există încă o definiţie precisă a sindromului insulinorezistenţei. În raportul său, OMS a propus o „definiţie de lucru" : hiperglicemie (IGT sau diabet) sau/şi insulinorezistenţă asociată(e) cu cel puţin doi din următorii factori :

- ➢ IGT sau diabet ;
- ➢ Insulinorezistenţă ;
- ➢ Hipertensiune arterială (≥140/90 mmHg) ;
- ➢ Hipertrigliceridemie (≥ 1,7 mmoli/l) sau/şi HDL-colesterol scăzut (< 0,9 mmoli/l la bărbaţi, < 1 mmoli/l la femei) ;
- ➢ Obezitate intra-abdominală (raport diametru talie/diametru şolduri > 0,85 pentru femei, > 0,9 pentru bărbaţi sau/şi IMC > 30) ;
- ➢ Micro-albuminurie (≥ 20 μg/min sau albumină/creatinină ≥ 30 mg/g).

În plus, anumiţi autori includ în definiţia acestui sindrom elemente suplimentare: hiperuricemie, creştere a fibrinogenului şi a inhibitorului activatorului pentru plasminogen (PAI-1), hiperlipemie postprandială, prezenţa LDL mici şi dense. Este interesant de notat în acelaşi timp faptul că o insulinorezistenţă poate fi prezentă singură, fără a fi asociată vreunui din aceste elemente de sindrom. Un studiu epidemiologic recent a arătat existenţa unei

insulinorezistenţe izolate (absenţă de obezitate, de IGT, de HTA, de hiperuricemie sau dislipidemie) la 5 % din populaţia studiată.

Rezistenţa la insulină corespunde unui efect tisular diminuat ca răspuns la o anumită concentraţie de insulină. Atâta timp cât este permis de capacitatea secretorie a celulelor β, ea se traduce printr-o hiperinsulinemie care asigură normoglicemia. Apariţia unei intoleranţe la glucoză se produce atunci când secreţia de insulină nu mai reuşeşte să compenseze insulinorezistenţa.

Insulinorezistenţa atinge toate ţesuturile ţintă ale insulinei, muşchii, ficatul, celulele β pancreatice şi adipocitele, acestea din urmă luând în ultimii ani o importanţă particulară în ceea ce priveşte explicarea sindromului. Mai multe mecanisme sunt incriminate în apariţia şi dezvoltarea insulinorezistenţei, însă rolul lor real rămâne a fi precizat, cu atât mai mult cu cât şi pe acest subiect cercetările au fost mai mult făcute pe şoareci şi nu sunt întotdeauna direct transpozabile la oameni. În plus, insulinorezistenţa în sine, precum de altfel şi apariţia frecventă a unei hiperglicemii, contribuie de asemenea la deteriorarea sensibilităţii tisulare vis-a-vis de insulină. Diferitele mecanisme evocate sunt prezentate mai jos.

Citokinele secretate de către adipocit

În ultimii câţiva ani, funcţia endocrină a ţesutului adipos s-a dovedit a juca un rol important în echilibrul energetic al organismului. Adipocitul secretă numeroşi factori a căror producţie este reglată, în parte, prin prezenţa obezităţii sau a regimurilor bogate în lipide: TNF-α (*Tumor necrosis factor* α), interleukina 6 (Il-6), leptina, adiponectina (Acrp30 sau AdipoQ), rezistina (FIZZ3), PAI-1 (*Plasminogen activator inhibitor*-1), etc.

TNF-α are proprietatea de a fosforila, prin intermediul kinazei JNK, IRS-1 la nivelul unui reziduu serină, diminuând astfel legătura dintre IRS-1 şi receptorul pentru insulină. În plus, această fosforilare a IRS-1 ar putea de asemenea inhiba activitatea tirozin kinazică a receptorului pentru insulină (a se vedea mai sus). Prin acest mecanism, secreţia de TNF-α, crescută în cazul obezităţii, ar induce o insulinorezistenţă.

Producţia de IL-6 este la rândul ei crescută în obezitate; secreţia de IL-6 de către ţesutul adipos visceral este de 2-3 ori mai importantă decât în ţesutul adipos sub-cutanat. Acţiunea IL-6 asupra insulinorezistenţei s-ar putea efectua prin intermediul unei creşteri a acizilor graşi liberi (AGL) circulanţi. Adiponectina, scăzută în cazul obezităţii, ameliorează insulinosensibilitatea; mai multe mecanisme au fost propuse: creşterea β-oxidării acizilor graşi (scăderea conţinutului în trigliceride musculare şi hepatice), sau diminuarea producţiei

hepatice de glucoză. În mod contrar, secreţia de rezistină este crescută în caz de obezitate, iar administrarea sa diminuează sensibilitatea la insulină (însă acest efect, observat la şoareci, se pare că nu se regăseşte şi la om). Fiecare din aceşti factori posedă prin urmare o acţiune diferită, însă capabilă de a afecta insulinosensibilitatea. Rolul lor fizio(pato)logic rămâne totuşi de precizat în viitor.

Acizii graşi liberi

Lipoliza unui adipocit „insulinorezistent" este mai puţin inhibată de către insulina circulantă decât cea a unui adipocit normal, ceea ce provoacă o creştere a AGL circulanţi care se vor acumula astfel în anumite ţesuturi. Muşchiul, care utilizează AGL preferenţial glucozei ca substrat energetic, joacă un rol major în fiziopatologia diabetului de tip 2. În fapt, la non-diabetici, captarea glucozei ca răspuns la secreţia de insulină este majoritar efectuată de către muşchi (a se vedea mai sus). Cea mai mare parte a glucozei captate în acest fel este pusă în rezervă sub formă de glicogen, restul fiind oxidat. La diabeticul de tip 2, insulinorezistenţa se traduce printr-o diminuare importantă a sintezei musculare de glicogen ca răspuns la insulină.

În 1963, Randle şi colaboratorii au emis ipoteza unei competiţii între glucoză şi AGL, postulând că o creştere a celor din urmă ar provoca insulinorezistenţa. Astfel, concentraţia crescută de AGL pe tot parcursul zilei, observată la diabeticii obezi, ar diminua oxidarea musculară a glucozei, participând în acest mod la dezvoltarea insulinorezistenţei şi a hiperglicemiei: menţinerea acetil CoA şi a $NADH/H^+$ la concentraţii crescute prin oxidarea AGL inhibă piruvat dehidrogenaza (PDH) şi fosfofructokinaza, provocând astfel o creştere de glucoză-6-fosfat, care inhibă la rândul său hexokinaza şi deci captarea glucozei. În plus, moleculele de acil CoA posedând o catenă lungă inhibă în mod direct anumite enzime precum glicogen sintaza sau hexokinaza. Totuşi, acest model a fost recent reconsiderat, ipoteza preferată în ultima vreme fiind cea a acţiunii AGL asupra căii de semnalizare a insulinei. Efectiv, acumularea intracelulară a metaboliţilor AGL (acil CoA, DAG, ceramide) pare să activeze o cascadă de kinaze (PKC-θ, IkB kinaza β) care fosforilează reziduuri de serină ale IRS-1 şi ale receptorului pentru insulină, reuşind astfel inhibarea activităţii acestora. La şoareci, ceramida, a cărei producţie este stimulată de TNF-α, inhibă activitatea Akt, cel mai probabil prin intermediul unei fosfataze ce menţine Akt în forma sa defosforilată. Translocarea GLUT-4 este în acest caz diminuată, ceea ce are drept consecinţă scăderea captării de glucoză.

AGL acţionează de asemenea la nivelul ficatului, stimulând neoglucogeneza. Această acţiune ar putea fi întărită printr-o hiperglucagonemie observată la diabeticii de tip 2.

Hiperinsulinemia

Hiperinsulinemia, consecinţă a insulinorezistenţei (atâta timp cât pancreasul păstrează o capacitate secretorie suficientă), acţionează asupra IRS-1 în aceeaşi manieră ca şi TNF-α, însă prin intermediul unei kinaze diferite.

Experimental, hiperinsulinemia provoacă de asemenea o fosforilare persistentă a SOS (*son of sevenless*) împiedicând asocierea acesteia ci Grb2. Fenomenul de reglare negativă (*down-regulation*) a receptorului pentru insulină pare a juca un rol marginal, aproape inexistent; la diabeticul de tip 2, numărul receptorilor la suprafaţa celulelor a fost declarat normal sau diminuat cu 20-30 %, în funcţie de studiile efectuate.

Hexozaminele

O parte a moleculelor de fructozo-6-fosfat sunt transformate în glucozamin-6-fosfat de către glutamină : fructozo-6-fosfat amidotransferază (GFAT). Această cale, care reprezintă 2-4 % din metabolismul intracelular al glucozei, conduce în mod principal la producerea de UDP-N-acetilglucozamină (UDP N-GlcNac). Creşterea activităţii căii hexozaminelor prin hiperglicemie provoacă o O-GlcNac-glicozilare a IRS-1, care ar putea diminua capacitatea sa de a fi fosforilat. Mai multe studii au evidenţiat calea hexozaminelor servind drept captor glucidic şi, în general, de integrator al stării nutriţionale a celulei, orientând metabolismul către un stocaj pe termen lung în condiţiile aporturilor calorice importante. Excesul cronic de hexozamine (şoareci transgenici pentru GFA, administrare de glucozamină, etc.) reproduce fenotipul diabetului de tip 2 prin obezitate, insulinorezistenţă, etc.

PC-1 (Plasma cell differentiation factor 1)

Glicoproteina P-1 este o nucleotid pirofosfatază membrabară care inhibă activitatea tirozin kinazică a receptorului pentru insulină. Supraexpresia PC-1, observată în muşchii anumitor subiecţi obezi, precum şi anumite variante alelice exprimate normal dar care îi măresc activitatea, ar putea interveni în insulinorezistenţă. Rolul său fiziologic rămâne de precizat.

Inozitol fosfat glicanii (IPG)

Diabeticii de tip 2 prezintă concentraţii urinare scăzute de *chiro*-IPG (a se vedea mai sus). În plus, raportul *chiro*-IPG/*myo*-IPG pare să fie corelat gradului de insulinorezistenţă. Diminuarea *chiro*-IPG ar putea provoca o scădere a glicogenogenezei, în timp ce *myo*-IPG, stimulând acetil CoA carboxilaza, creşte lipogeneza.

În acest fel, fiziopatologia sindromului insulinorezistenţei asociază în mod strâns ţesutul adipos, muşchiul scheletic şi ficatul. Alterarea unuia din aceste organe are repercusiuni importante asupra celorlalte, cu modificări substanţiale ale metabolismului lor intracelular şi a substraturilor energetice.

COMPLICAŢIILE DIABETULUI ZAHARAT

Complicaţiile acute ale diabetului zaharat sunt decompensări metabolice ce pot fi încadrate în cetoacidoza diabetică, coma hiperosmolară, acidoza lactică sau coma hipoglicemică.

Complicatiile cronice ale diabetului zaharat pot fi clasificate în: microvasculare (retinopatie, nefropatie, neuropatie - somatică şi vegetativă, boala microvasculară coronariană) şi macrovasculare (ateroscleroza accelerată la nivelul coronarelor, vaselor cerebrale, arterelor periferice), la care se adaugă alte complicaţii cronice: cardiomiopatie diabetică, complicaţii cronice cutanate, complicaţii musculoscheletale, afectare hepatică, disfuncţie sexuală. În continuare vor fi prezentate pe scurt câteva din complicaţiile diabetului zaharat.

Cetoacidoza diabetică

Această complicaţie acută a diabetului zaharat continuă să fie o importantă cauză de morbiditate şi mortalitate în rândul pacienţilor cu diabet zaharat. Rata mortalităţii variază mult, în funcţie de factori socio-economici, de calitatea actului medical şi de factori ce ţin de pacient (vârstele extreme, patologia asociată etc.). În centrele cu experienţă, mortalitatea pacienţilor diabetici cu cetoacidoză este sub 5 %.

Cetoacidoza apare din cauza unui deficit absolut sau relativ de insulină şi are ca modificări biochimice principale acidoza metabolică prin producţie crescută de corpi cetonici şi hiperglicemia.

Infecțiile reprezintă cea mai frecventă cauză identificabilă a cetoacidozei. Pe locul al doilea ca frecvență, se situează erorile de management al diabetului, incluzând reduceri inadecvate ale dozelor de insulină sau chiar întreruperea insulinoterapiei. Coma inaugurală cetoacidotică este una dintre modalitățile de debut ale diabetului zaharat tip 1. Alți factori declanşatori mai sunt: intervenţiile chirurgicale, accidentele vasculare cerebrale, infarctul miocardic, emoțiile puternice sau traumatismele psihice, tulburări ale comportamentului alimentar (frecvente mai ales în rândul adolescentelor), medicamente care influenţează metabolismul glucidic (corticosteroizi, diuretice tiazidice, substanţe simpatomimetice etc). Sarcina este o condiție care favorizează instalarea cetoacidozei în rândul pacientelor diabetice.

Baza fiziopatologică a cetoacidozei diabetice o constituie deficitul de insulină, absolut (în cetoacidoza diabetică inaugurală şi în cazul întreruperii insulinoterapiei la pacienții cu diabet zaharat tip 1) sau relativ (mai frecvent, datorat hiperproducţiei hormonilor de contrareglare catecolamine, glucagon, cortizol şi hormonul de creştere). Insulinopenia duce la lipoliză, cu eliberarea de acizi graşi liberi, care la nivelul ficatului sunt transformați în corpi cetonici.

Corpii cetonici sanguini sunt metaboliți normali, a căror concentrație plasmatică este de aproximativ 1mEq/l (>5mEq/l în cetoacidoză). Cetoacidoza apare atât prin producție crescută de corpi cetonici, cât şi prin scăderea utilizării lor periferice. Hiperglicemia rezultă din producția hepatică crescută (glicogenoliză şi gluconeogeneză) şi scăderea utilizării periferice a glucozei (insulinopenie coroborată cu insulinorezistența dată de acizii graşi liberi şi hormonii de contrareglare).

Creşterea glicemiei antrenează diureza osmotică, ce duce la pierderi importante de apă (până la 6-8l/zi la un pacient cu funcție renală normală), electroliți, glucoză (până la 20g/zi) şi corpi cetonici.

Manifestările clinice sunt:

- simptomele unui diabet zaharat dezechilibrat se pot instala cu câteva zile înainte;
- poliurie, nicturie;
- polidipsie;
- scădere ponderală variabilă, într-un interval scurt de timp;
- alterarea metabolică tipică pentru CAD se instalează, de obicei, într-un timp scurt, mai rapid la copii şi bătrâni şi la cei cu diabet cronic dezechilibrat şi se poate manifesta prin:
- semne de deshidratare: tegumente şi mucoase uscate, limba prăjită, pliu cutanat persistent, hipotonia globilor oculari;

- respirația Kussmaul: respirație foarte amplă, tahipneică, cu scurte pauze la sfârșitul fiecărui timp respirator;
- slăbiciune musculară (bolnav cu aspect flasc, hipoton);
- grețuri, vărsături și dureri abdominale difuze;
- alterări ale senzorului: dezorientare temporo-spațială - obnubilare - stupor – comă;
- simptome și semne ale unei afecțiuni declanșatoare (infarct miocardic; accident vascular cerebral; infecție urinară; pneumonie etc.)

Coma hiperosmolară

În diabetul de tip 2, se poate instala o hiperglicemie severă (> 50 mmol/l) în asociere cu o deshidratare profundă și o hiperosmolaritate plasmatică (> 350 mOsm/l). Acidoza și cetoza sunt absente (corpii cetonici sunt absenți în urină și în concentrație normală în ser; ionii HCO_3^- au valori peste 20 mEq/l; pH > 7,3). Această complicație este adesea denumită și „comă hiperosmolară".

Acidoza lactică

Acidoza lactică reprezintă o complicație mai puțin frecventă a diabetului. Se caracterizează prin hiperglicemie, acidoză (pH < 7,35) și creșterea concentrației lactatului la concentrații mai mari de 7 mmoli/l (valoarea normală: 0,4-1,2 mmoli/l).

Ea este întâlnită mai ales la pacienții tratați cu fenformină, metformină, antidiabetice orale din clasa biguanide, însă actual este mai degrabă asociată patologiei sistemice severe, ca de exemplu șoc sau pancreatită.

Microangiopatii și macroangiopatii

Hiperglicemia cronică (evaluată prin dozarea hemoglobinei glicozilate HbA1c) este un determinant major al complicațiilor microvasculare, așa cum a fost arătat de două mari studii de experiențe terapeutice, dintre care unul efectuat pe diabetul de tip 1 (*Diabetes Control and Complication Trial* – DCCT), iar celălalt pe diabetul de tip 2 (*United Kingdom Prospective Diabetes Study* – UKPDS). În cazul DCCT (în medie 6,5 ani de monitorizare), efectul benefic al unui mai bun echilibru glicemic (insulinoterapie optimizată) asupra apariției și dezvoltării retinopatiei și a nefropatiei nu devine aparent decât după 3 sau 4 ani de tratament optimizat. În plus, studiul EDIC (*Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications*), care înglobează cea mai mare parte a diabeticilor din studiul DCCT, arată faptul că acest efect

benefic se continuă chiar şi după creşterea la loc a nivelului glicemic, ceea ce se produsese la finalul studiului DCCT.

Ansamblul acestor rezultate, atât la oameni cât şi pe animale, tinde de asemenea să demonstreze, cel puţin în cazul diabetului de tip 1, că efectul benefic al unui bun echilibru glicemic este cu atât mai pronunţat cu cât respectivul tratament este administrat mai precoce. Hiperglicemia şi, aparent, insulinorezistenţa joacă de asemenea roluri importante în patogeneza complicaţiilor macrovasculare.

În ansamblu, complicaţiile sunt identice în diferitele tipuri de diabet (cu excepţia formelor excepţionale precum leprechaunismul); totodată, frecvenţa şi severitatea lor sunt variabile. Intervin şi diferiţi parametri, precum vârsta apariţiei şi durata maladiei, gradul de hiperglicemie, patologiile asociate (obezitatea, hipertensiunea arterială şi dislipidemiile sunt foarte frecvente în diabetul de tip 2), tratamentul, anumiţi factori genetici, etc.

Complicaţiile macrovasculare (macroangiopatii)

Diabetul este asociat unei ateroscleroze, care apare în general de o manieră precoce, fiind în principal o sursă de insuficienţă coronariană şi de arterită a membrelor inferioare. Ateroscleroza a devenit prima cauză de deces la diabetici. Corelaţia între gradul de hiperglicemie şi severitatea macroangiopatiei este diferită de cea în cazul microangiopatiilor. Spre deosebire de microangiopatii, nu există valori de prag ale glicemiei sub care complicaţiile macrovasculare ar fi foarte diminuate, iar în timpul experimentelor terapeutice, scăderea glicemiei nu are decât foarte puţine consecinţe. Astfel, în cazul studiului UKPDS, scăderea glicemiei pe o lungă perioadă de timp (cu HbA1c mediană de 7 %), la diabeticii de tip 2 tratat cu insulină sau cu sulfoniluree, nu a diminuat riscul de deces de origine cardiovasculară (în comparaţie cu grupul tratat numai prin regim, cu HbA1c mediană de 7,9 %); doar metformina (neasociată sulfonilureei) în sub-grupul obezilor a avut un efect pozitiv asupra acestui criteriu. La acest nivel intră de asemenea în joc ceilalţi factori de risc cardiovascular foarte adesea prezenţi la diabetici, precum hipertensiunea arterială sau dislipidemiile. Per total, insuficienţa coronariană şi accidentele vasculare cerebrale sunt de 2 până la 5 ori mai frecvente decât în populaţia nediabetică.

Trebuie notat faptul că ischemia miocardică are particularitatea de a fi mult mai adesea indoloră la diabetici, cel mai probabil din cauza unei neuropatii asociate. De altfel, arterita membrelor inferioare este de 4 ori mai frecventă decât la nediabetici; ea se caracterizează prin frecvenţa cangrenelor care conduc la amputări.

Patogeneza aterosclerozei la diabetici debutează printr-o disfuncţie endotelială rezultată dintr-o diminuare a producţiei endoteliale de NO, o creştere a PAI-1 şi din proliferarea celulelor netede vasculare, toate aceste alterări fiind secundare insulinorezstenţei şi hiperglicemiei.

Complicaţiile microvasculare (microangiopatii)

Microangiopatia diabetică se exprimă prin retinopatie, nefropatie şi neuropatie. Principalele caracteristici ale micro microangiopatiilor sunt:

- Creşterea debitului, presiunii şi permeabilităţii capilare, cu o transmisie directă, fără autoreglare hemodinamică, a presiunii arteriale sistemice;
- Creşterea diametrului capilarelor;
- Modificarea membranei bazale a capilarelor şi a matricei extracelulare.

Cu timpul, aceste anomalii se agravează şi devin ireversibile; permeabilitatea creşte, capilarele se obturează, provocând o pierdere de celule microvasculare. Aceste anomalii provoacă edeme şi ischemii, cu precădere retiniene, asociate cu angiogeneză (dezvoltare de vase de sânge noi, puţin funcţionale, ca reacţie la hipoxie).

La nivel renal, ele cauzează o creştere a filtraţiei glomerulare, probabil legată de o alterare a rezistenţei arteriolare, urmată de o proteinurie şi de glomeruloscleroză.

Există o corelaţie strânsă între severitatea acestor complicaţii, gradul hiperglicemiei şi durata diabetului. Studiul DCCT a stabilit în mod clar faptul că diminuarea hiperglicemiei decalează apariţia complicaţiilor microvasculare şi întârzie progresia acestora atunci când sunt prezente înainte de tratament. Se pare că ar exista o valoare de prag, în jur de 7 mmoli/l *à jeun*, sub care toate aceste complicaţii devin rare. Totodată intervin şi alţi factori încă puţin cunoscuţi, ceea ce ar explica faptul că o proporţie mică (< 10 %) de diabetici de tip 1 prezentând o HbA1c joasă (< 7 %) dezvoltă totuşi o retinopatie, în timp ce alţi indivizi prost echilibraţi sunt scutiţi.

Pierderea pericitelor capilare este una din primele şi cele mai specifice manifestări asociate retinopatiei diabetice. După 20 de ani de diabet, retinopatia este prezentă la 90 % din diabetici. Ea este proliferativă la 50-60 % din diabeticii de tip 1. La diabeticii de tip 2, evoluţia către stadiul proliferativ este mai puţin frecventă, însă cifrele sunt foarte variabile în funcţie de studii, mergând de la 5 la 25 %. În plus, 20 % din diabeticii de tip 2 prezintă o retinopatie în momentul diagnosticării maladiei. Un studiu suedez din 1987 evidenţia 4,4 % cecitate şi 4,9 % insuficienţă vizuală severă la diabeticii de tip 1; la tipul 2, prevalenţa acestor

complicaţii era de 1,4 %, respectiv 7,2 %. Diabetul este astfel prima cauză de cecitate dobândită netraumatică.

Nefropatiile se clasează în 5 stadii descrise de către Mogensen, unde stadiul 3 reprezintă nefropatia incipientă, asociată cu o creştere a filtraţiei glomerulare şi a presiunii arteriale, precum şi cu albuminurie între 30 şi 300 mg/zi (20-200 µg/minut). Nefropatia clinică diabetică (stadiul 4) se defineşte printr-o proteinurie persistentă, o diminuare a filtraţiei glomerulare, hipertensiune arterială şi modificări morfologice ale rinichiului. Nefropatia este prezentă la 25-30 % din diabeticii de tip 1 după 10-15 ani de evoluţie. Aproximativ 15 % din copiii diabetici mai mult de 5 ani prezintă o micro-albuminurie. În cazul tipului 2, prevalenţa variază în funcţie de studii între 10 şi 34 %, dintre care 3 % prezentând insuficienţă renală. Prevalenţa nefropatiei în diabetul de tip 2 creşte într-o manieră destul de rapidă, devenind astfel în multe ţări prima cauză de insuficienţă renală terminală. Apariţia unei nefropatii este un marker de prognostic rău, sporind într-o manieră foarte importantă riscul maladiilor cardiovasculare.

Neuropatia diabetică este considerată în cele mai multe cazuri o microangiopatie, cu toate că etiologia sa nu pare a fi numai de origine microvasculară. Această complicaţie este de asemenea foarte frecventă (80 % din diabeticii a căror durată de maladie este mai mare de 15 ani), traducându-se prin simptome foarte variate. Dacă sunt reţinute doar criteriile clinice, prevalenţa neuropatiilor variază de la 25 la 50 % la diabeticii de tip 1, fiind aproximativ de două ori mai mică la cei de tip 2.

Polineuropatiile sunt formele cele mai frecvente ale acestor complicaţii şi afectează membrele inferioare, traducându-se prin tulburări ale sensibilităţii, parestezii şi uneori prin dureri intense. Mononeuropatiile, mai rare, sunt la originea unor tulburări motorii (paralizie oculomotorie, etc.) şi a unor dureri (cruralgie, etc.). Neuropatia vegetativă se traduce prin manifestări cardiovasculare (hipotensiune ortostatică), impotenţă, afecţiuni vezicale sau digestive (diaree, etc.).

Ulceraţia perforantă a picioarelor este considerată în mod clasic ca o consecinţă a neuropatiei, cu toate că nu este singurul factor ce intervine în această patologie. În Franţa de exemplu, în fiecare an sunt amputaţi din acest motiv 5000 de diabetici.

DIABETUL ŞI SARCINA

Mai multe tipuri de diabet pot acompania sarcina. Diabetul gestaţional se defineşte printr-o intoleranţă la glucoză, generatoare de hiperglicemie de severitate variabilă, a cărei apariţie sau descoperire survine în timpul sarcinii. Această definiţie exclude prin urmare femeile a căror sarcină se produce în cursul unui diabet cunoscut anterior, cel mai adesea de tip 1 dacă ţinem seama de vârstă. Sarcina normală este acompaniată de o creştere a sensibilităţii tisulare la insulină în timpul primelor două trimestre. Din contra, cel de-al treilea trimestru este marcat de o creştere a insulinorezistenţei ţesuturilor materne, în mod normal compensată de o secreţie crescută de insulină. Apariţia diabetului gestaţional rezultă cel mai probabil dintr-o combinaţie de două cauze: existenţa unei stări de insulinorezistenţă înaintea sarcinii care se adaugă celei din timpul sarcinii (femeile cu diabet gestaţional sunt mai insulinorezistente decât femeile însărcinate nediabetice), precum şi incapacitatea pancreasului de a compensa această stare printr-o creştere a insulinemiei. Datorită particularităţilor pe care le prezintă, complicaţiile asociate diabetului din timpul sarcinii sunt prezentate mai jos.

Complicaţii specifice

În mod global, frecvenţa şi severitatea complicaţiilor sunt corelate cu importanţa hiperglicemiei, aceasta jucând se pare un rol nefast încă din viaţa embrionară.

La femeia diabetică de tip 1, sarcina provoacă o creştere a frecvenţei infecţiilor urinare, a hidramniosului şi a hipertensiunii arteriale (HTA) complicate uneori cu pre-eclampsie. Prevalenţa malformaţiilor congenitale este multiplicată cu un factor de 2 până la 10 (în funcţie de studii şi de gradul hiperglicemiei), frecvenţa prematurităţii fiind de asemenea crescută, iar macrosomia prezentă la 10-40 % din cazuri. Celelalte complicaţii mai frecvente la nou născut sunt depresia respiratorie, hipoglicemia, hipocalcemia, poliglobulia, hiperbilirubinemia, etc. Mortalitatea *in utero* a devenit însă rară la femeile bine echilibrate, similară celei dintr-o populaţie nediabetică; înainte de 1950, această mortalitate atingea 40 %.

Diabetul gestaţional este în acelaşi timp asociat cu complicaţii materne, fetale şi neonatale, precum şi cu unele complicaţii pe termen lung. Pentru cea mai mare parte a acestor complicaţii, riscul creşte odată cu gradul hiperglicemiei. La mamă, diabetul gestaţional este asociat cu o creştere a frecvenţei hipertensiunii arteriale şi cu un procentaj de cezariene mai crescut. Diabetul dispare în general după naştere, cu excepţia cazului existenţei unui diabet

nedepistat anterior sarcinii. Atunci când diabetul este depistat în timpul sarcinii, statutul glicemic trebuie să fie reevaluat ulterior, la un interval de cel puțin 6 săptămâni după naștere.

Pe termen lung devine foarte important riscul de a dezvolta un diabet de tip 2. În funcție de etnie și de gradul de obezitate, 20 până la 80 % din femeile care au avut un diabet gestațional devin diabetice de tip 2 în primii 10 ani după naștere. La nou născut, această formă de diabet provoacă o macrosomie în 20 % din cazuri, un risc crescut de hipoglicemie, de hiperbilirubinemie, precum și un risc mai crescut de obezitate sau de a dezvolta un diabet de tip 2 la vârsta adultă.

Fiziopatologia complicațiilor

Hiperglicemia este un determinant major al complicațiilor observate, chiar dacă și alți factori încă necunoscuți, însă cu precădere genetici, par să intervină.

Macrosomia

Spre deosebire de glucoză, insulina maternă nu trece de bariera feto-placentară (cu excepția pasajului sub formă de complexe imune insulină – anticorpi anti-insulină, observat uneori la femeile diabetice de tip 1). Pancreasul fetal sintetizează insulină între a 8-a și a 10-a săptămână de sarcină, însă secreția acesteia ca răspuns la glucoză se produce abia în jur de a 20-a săptămână.

În cursul vieții fetale, insulina se comportă ca un factor de creștere important. De vreme ce placenta transferă glucoza către fetus într-o manieră proporțională concentrațiilor materne, hiperglicemia maternă va provoca o hiperinsulinemie fetală care accentuează creșterea fetală prin diferite mecanisme: creștere a sintezei proteice și a adipogenezei, diminuarea utilizării grăsimilor. În ultimele 12 săptămâni de sarcină, acumularea grăsimilor la un fetus de mamă diabetică este cu 50-60 % mai mare decât cea a unui fetus de mamă nediabetică. În plus, hiperinsulinemia pare să stimuleze creșterea placentară, ceea ce ar avea o acțiune, mai mult sau mai puțin directă, asupra creșterii fetale.

Malformațiile

Hiperglicemia pare să fie în aceeași măsură o cauză de malformații, frecvența acestora putând fi considerabil diminuată prin normalizarea glicemiei. Cu toate aceste, chiar dacă este bine controlat, diabetul cauzează o frecvență mai mare a malformațiilor comparativ cu o

populaţie normoglicemică. Acest fenomen ar putea fi explicat în parte prin acţiunea nefastă a hiperglicemiei încă din primele stadii ale vieţii embrionare, de unde sfatul de a controla cât mai bine glicemia încă dinainte de începutul sarcinii.

La şoareci, hiperglicemia provoacă o scădere a numărului transportorilor de glucoză ai celulelor embrionare în stadiul pre-implantator (blastocişti). În aceste condiţii, concentraţiile intracelulare de glucoză sunt diminuate, ceea ce declanşează o cascadă de semnale care în final induc apoptoza. În funcţie de importanţa acestei apoptoze, fenomenul conduce astfel la malformaţii sau la un avort spontan. În stadiul post-implantator, hiperglicemia, printr-o cale de semnalizare diferită, este de asemenea capabilă să inducă apoptoza anumitor linii celulare, fenomen ce stă la originea malformaţiilor cardiace, musculare şi neuronale. În timp ce rolul hiperglicemiei asupra apoptozei la diferite stadii embrionare este destul de bine dovedit experimental la şoareci, acest rol rămâne încă ipotetic în ceea ce priveşte specia umană.

CAPITOLUL IV. LIPIDELE, LIPOPROTEINELE PLASMATICE ŞI BOLILE CARDIOVASCULARE

INTRODUCERE

Principalele lipide din plasmă sunt acizii graşi, trigliceridele, colesterolul şi fosfolipidele. Concentraţiile plasmatice crescute de lipide, în special de colesterol sunt asociate printr-o legătură de cauzalitate cu patogeneza aterosclerozei, procesul responsabil de cea mai mare parte a bolilor cardiovasculare (maladiile coronariene, cerebro-vasculare şi vasculare periferice).

Conţinutul normal al plasmei în lipide este între 5-7 g/l (500-700 mg %), cuprinzând diferiţi compuşi lipidici, ale căror cantităţi normale sunt prezentate în tabelul IV.1.

Tabelul IV.1. Compoziţia în lipide a plasmei

Compus	g/l	mmoli/l
Lipide totale	5-7	
Colesterol total	1,5-2,4	3,06-6,5
Colesterol liber	0,45-0,72	0,9-1,95
Colesterol esterificat	1,05-1,68	2,1-4,55
Fosfolipide	1,2-3,8	1,9-3,5
Trigliceride	0,5-1,5	0,5-1,7
Acizi graşi liberi	0,03-0,09	0,3-0,9

ACIZII GRAŞI LIBERI

Acizii graşi liberi sau neesterificaţi reprezintă o fracţiune lipidică dinamică iar importanţa lor este recent cunoscută. Plasma normală conţine între 380-900 μmoli/l (30-50 mg/l), sub formă legată de albumină. Capacitatea maximă de fixare a albuminei de acizii graşi liberi este de 10 mmol/l, ceea ce înseamnă că o moleculă de albumină serică poate fixa 10 molecule de acid gras. Pe de altă parte, această capacitate este folosită în condiţii normale doar într-o proporţie de 10 %.

TRIGLICERIDELE

Trigliceridele sau triacilglicerolii (TAG) sunt constituiţi dintr-o moleculă de glicerol esterificat cu trei molecule de acizi graşi cu catenă lungă cum sunt acidul stearic (18 atomi de carbon) sau acidul palmitic (16 atomi de carbon). Gliceridele parţiale, respectiv mono-sau digliceridele conţinând glicerol esterificat doar cu una sau două molecule de acizi graşi, reprezintă probabil etape intermediare în procesul de sinteză sau de degradare a trigliceridelor şi se găsesc în plasmă în cantităţi mult mai reduse faţă de acestea.

În organism, trigliceridele provin din alimentaţie (sursa exogenă), însă pot fi sintetizate de ficat şi de ţesutul adipos (sursă endogenă) în scopul constituirii rezervelor energetice. Atunci când este necesar (de exemplu à jeun - pe nemâncate), trigliceridele pot fi mobilizate din rezerve. Cu toate că majoritatea acizilor graşi din organism sunt saturaţi, anumiţi acizi graşi nesaturaţi devin importanţi în calitate de precursori ai prostaglandinelor şi în esterificarea colesterolului. Prin conţinutul lor în acizi graşi saturaţi şi nesaturaţi, trigliceridele reprezintă constituenţi importanţi ai membranelor celulare. Principalul rol al trigliceridelor este acela de a stoca energia în ţesutul adipos şi de a o elibera la nevoie ca acizi graşi liberi ce urmează a fi catabolizaţi la nivelul musculaturii. Trigliceridele din ţesutul adipos şi din alte ţesuturi reprezintă cel mai important depozit de rezervă de energie al organismului (aproximativ 135 000 kcal pentru un adult normal).

COLESTEROLUL

Colesterolul deţine numeroase funcţii esenţiale în organismul uman. El este suportul biochimic pentru sinteza acizilor biliari, a tuturor hormonilor steroidieni, a vitaminei D) şi reprezintă o cotă importantă a ponderii noastre (13 %), fiind prezent în toate ţesuturile. De asemenea, colesterolul sau precursorul său reprezintă materia primă pentru sinteza calciferolului (vitamina D_3). Prezenţa colesterolului în membranele celulare este importantă pentru stabilitatea şi permeabilitatea acestora, făcându-le mai rezistente şi majorând limitele temperaturilor la care membranele rămân funcţionale.

O mare parte de colesterol este sintetizat de ficat şi intestin, o proporţie mai mică se produce în cortexul glandei suprarenale şi gonade, care este ulterior utilizată pentru sinteza hormonilor omonimi, fondul respectiv de colesterol fiind astfel exclus din circuitul metabolic. În condiţii normale, colesterolul endogen este majoritar de sinteză proprie – 600-1000 mg/zi,

din alimentaţie absorbindu-se o cantitate mai mică – 300-600 mg/zi. În duoden, grăsimile alimentare, printre care şi circa ½ din colesterolul alimentar, sunt convertite sub influenţa acizilor biliari din esteri de colesterol în colesterol liber, care astfel este absorbit. În enterocite, colesterolul este reesterificat cu ajutorul acil-CoA colesterol transferazei (ACAT) şi, împreună cu trigliceridele şi apoliproteinele, contribuie la formarea chilomicronilor.

Colesterolul este excretat în bilă ca atare sau după transformarea sa în acizi biliari.

FOSFOLIPIDELE

Fosfolipidele au o structură comparabilă cu cea a trigliceridelor, cu diferenţa că un rest de acid gras este înlocuit cu o grupare fosfat şi o bază azotată.

Moleculele lipidice fiind insolubile, transportul triacilglicerolilor, colesterolului liber, esterilor de colesterol şi fosfolipidelor în plasmă se realizează de către complecşi ai lipidelor cu proteinele, numiţi lipoproteine. Dislipidemia, adică perturbările în acest transport, joacă un rol major în patogeneza şi expresia clinică a aterosclerozei, prin promovarea formării plăcilor aterosclerotice, contribuind totodată la tromboza arterială. Pe lângă rolul de vehicul de transport al lipidelor, lipoproteinele au rol în păstrarea compoziţiei lipidice a membranei şi în reglarea proceselor metabolice celulare.

LIPOPROTEINELE

Lipoproteinele sunt complexe macromoleculare de lipide (insolubile în mediul apos) legate cu proteine specifice. Lipoproteinele sunt de regulă particule sferice, constituite dintr-un miez central apolar de trigliceride şi esteri de colesterol, înconjurat de un strat extern, polar, reprezentat de fosfolipide, colesterol şi proteine numite apoproteine sau apolipoproteine (Figura IV.1).

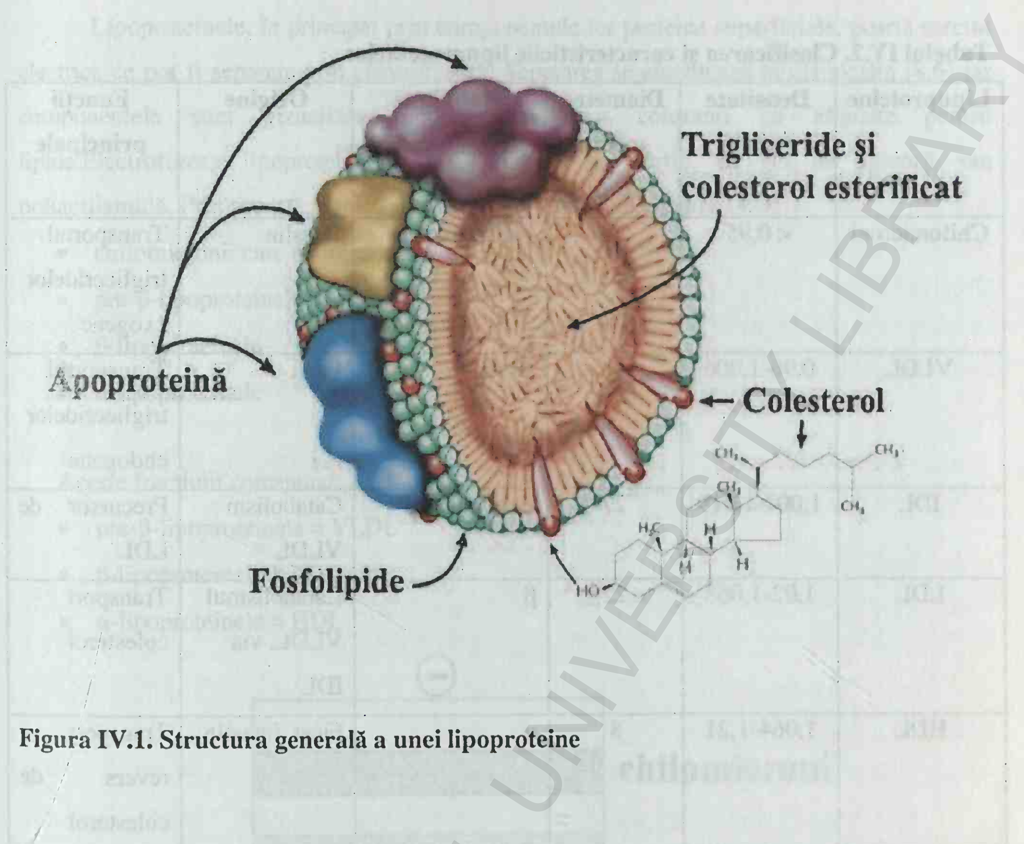


Figura IV.1. Structura generală a unei lipoproteine

Clasificarea lipoproteinelor

Lipoproteinele sunt clasificate în funcție de densitatea lor crescândă la ultracentrifugare în: chilomicroni, lipoproteine cu densitate foarte mică (**VLDL** – *very low density lipoproteins*), lipoproteine cu densitate mică (**LDL** – *low density lipoproteins*), lipoproteine cu densitate intermediară (**IDL** - *intermediate density lipoproteins*) şi lipoproteine cu densitate mare (**HDL** – *high density lipoproteins*).

Clasificarea lipoproteinelor poate fi observată în tabelul IV.2, iar proporțiile relative în lipide şi apoproteine sunt reprezentate grafic în figura IV.2.

Lipoproteinele cu densitate mare HDL pot fi la rândul lor separate pe baza densității lor în două subclase distincte pe plan metabolic şi anume: HDL2 (densitate 1,064-1,125) şi HDL3 (densitate 1,126-1,21). De asemenea se pot diferenția şi alte subclase de LDL (LDL1, 2 şi 3 în ordinea creşterii densității lor).

IDL nu se regăsesc fiziologic decât în cantități foarte mici în sângele circulant, dar pot să se acumuleze în anumite patologii ale metabolismului lipoproteinelor.

Tabelul IV.2. Clasificarea şi caracteristicile lipoproteinelor

Lipoproteine	Densitate (g/ml)	Diametru mediu (nm)	Mobilitate electroforetică	Origine	Funcții principale
Chilomicroni	< 0,95	500	Nu migrează	Intestin	Transportul trigliceridelor exogene
VLDL	0,96-1,006	43	pre-β	Ficat	Transportul trigliceridelor endogene
IDL	1,007-1,019	27	Bandă lată-β	Catabolism VLDL	Precursor de LDL
LDL	1,02-1,063	22	β	Catabolismul VLDL, via IDL	Transport colesterol
HDL	1,064-1,21	8	α	Ficat, intestin	Transport revers de colesterol

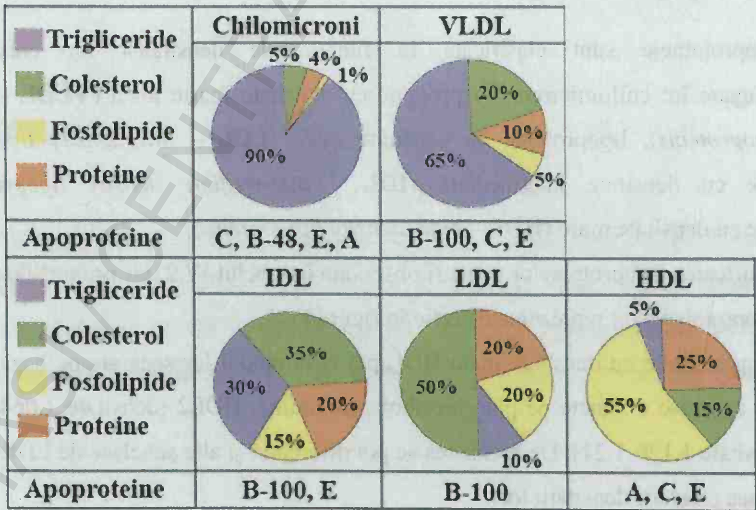


Figura IV.2. Compoziția lipoproteinelor

Compoziția dată pentru HDL corespunde pentru cea a HDL3; HDL2 conține mai puține proteine şi mai multe lipide. Sunt indicate doar apoproteinele principale.

Lipoproteinele, în principal prin componentele lor proteice superficiale, poartă sarcini electrice ce pot fi separate prin electroforeză. Separarea se efectuează la pH alcalin (8,6) iar componentele sunt vizualizate cu ajutorul unor coloranți cu afinitate pentru lipide.Electroforeza lipoproteinelor se efectuează pe hârtie, în gel de agaroză sau poliacrilamidă. Prin această tehnică sunt separate 4 fracțiuni (Figura IV.3):

- chilomicronii care nu migrează
- pre-β-lipoproteinele
- β-lipoproteinele
- α-lipoproteinele

Aceste fracțiuni corespund:

- pre-β-lipoproteinele = VLDL
- β-lipoproteinele = LDL
- α-lipoproteinele = HDL

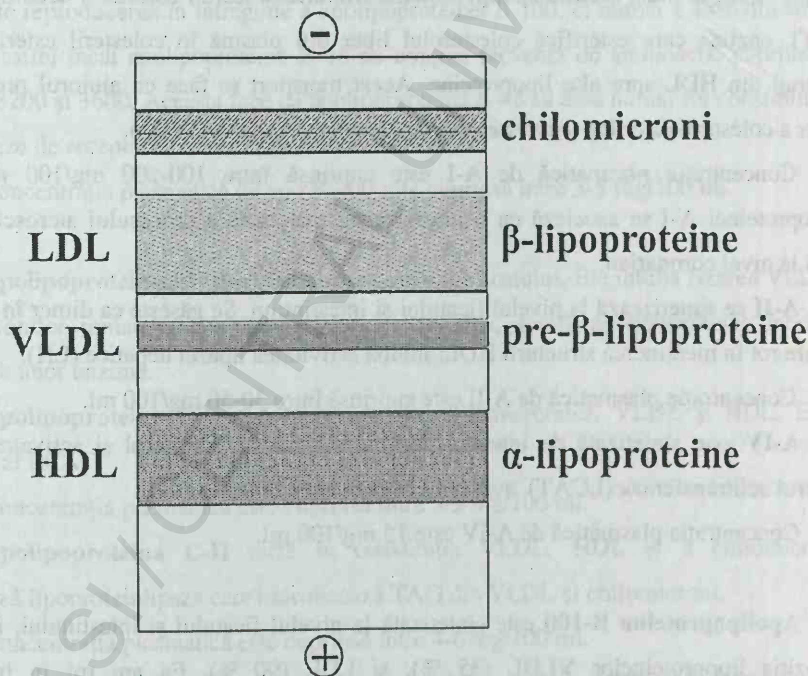


Figura IV.3. Fracțiunile lipoproteice care se obțin prin electroforeza serului

Apolipoproteinele

Apolipoproteinele sunt situate la suprafaţa particulelor de lipoproteine, condiţionând solubilizarea acestora din urmă şi transportul lor sanguin. Au fost descrise mai multe apolipoproteine cu roluri diferite, structurale, funcţionale, sau metabolice, ca de exemplu recunoaşterea receptorilor celulelor-ţintă sau activarea unor enzime care participă la metabolismul lor.

Apolipoproteinele A sunt constituenţi ai HDL. Au fost descrise 3 astfel de apolipoproteine notate cu A-I, A-II şi A-IV.

A-I (proteina majoră a lipoproteinelor) este sintetizată la nivelul ficatului şi intestinului. Apo A-1 este dominantă în HDL (67 %), fiind esenţială pentru menţinerea structurii HDL. In plus, această apolipoproteină stimulează lecitin-colesterol-acetiltransferaza (LCAT), enzima care esterifică colesterolul liber din plasmă în colesteril esteri, ce sunt transferaţi din HDL spre alte lipoproteine. Acest transport se face cu ajutorul proteinei de transfer a colesteril esterilor (*cholesteryl ester transfer protein* = CETP).

Concentraţia plasmatică de A-I este cuprinsă între 100-200 mg/100 ml. Lipsa apolipoproteinei A-I se asociază cu o intensificare exagerată a procesului aterosclerotic, în special la nivel coronarian.

A-II se sintetizează la nivelul ficatului şi intestinului. Se găseşte ca dimer în HDL (22 %) şi are rol în menţinerea structurii HDL. Inhibă activitatea lipazei hepatice (LH).

Concentraţia plasmatică de A-II este cuprinsă între 30-50 mg/100 ml.

A-IV este sintetizată de intestin. Permite efluxul de colesterol şi activează lecitin-colesterol aciltransferaza (LCAT) având rol în conversia colesterolului.

Concentraţia plasmatică de A-IV este 15 mg/100 ml.

Apolipoproteina B-100 este sintetizată la nivelul ficatului şi intestinului, intrând în compoziţia lipoproteinelor VLDL (35 %), şi LDL (90 %). Ea are rol în transportul triacilglicerolilor de la ficat spre VLDL dar şi acela de ligand - prin intermediul său lipoproteinele se fixează de anumiţi receptori existenţi la nivelul ficatului, numiţi receptori pentru LDL, şi de anumite proteine în legătură cu receptorii pentru LDL (LDL *receptor-related protein* - **LRP**). Fixarea apolipoproteinei B-100 de aceşti receptori se face prin

intermediul unei secvenţe de aminoacizi, cuprinsă între poziţiile 3200 şi 3600 ale lanţului polipeptidic al acestei proteine. Prin intermediul acestor receptori ficatul captează lipoproteinele din sânge, numărul receptorilor putând sa varieze, în funcţie de nevoile ficatului în colesterol.

Apolipoproteina B-100 se acumulează la nivelul leziunilor arterosclerotice cu o viteză mai mare în comparaţie cu colesterolul. Se consideră că nivelul plasmatic crescut al apo B-100 constituie un factor de risc pentru arteroscleroză mai important decât creşterea colesterolului sau a triacilglicerolilor.

Concentraţia plasmatică de apo B-100 este cuprinsă între 60-140 mg/100 ml.

Apolipoproteina B-48 este sintetizată exclusiv în mucoasa intestinală şi se găseşte în chilomicroni, lipoproteinele care transportă lipidele din intestin spre ficat.

Ea este sintetizată pornind de la aceeaşi genă care stă la baza sintezei apolipoproteinei B100. La nivelul celulelor intestinale însă, se formează un anume tip de ARN mesager, care nu permite reproducerea în întregime a apolipoproteinei B-100, ci numai a 48% din structura acesteia, astfel încât apolipoproteina B-48 nu conţine secvenţa de aminoacizi cuprinsă între poziţiile 3200 şi 3600. Aceasta face ca apolipoproteina B-48 să aibă numai rol constitutiv şi să nu se fixeze de receptorii pentru LDL sau de LRP.

Concentraţia plasmatică de apo B-400 este cuprinsă între 3-5 mg/100 ml.

Apolipoproteinele C sunt sintetizate la nivelul ficatului. Ele inhibă fixarea VLDL şi a chilomicronilor remanenţi la nivelul ficatului. In plus, aceste apolipoproteine modulează activitatea unor enzime.

Apolipoproteina C-I intră în constituţia chilomicronilor, VLDL şi HDL. Este un activator al LCAT.

Concentraţia plasmatică este cuprinsă între 3-5 mg/100 ml.

Apolipoproteina C-II intră în constituţia VLDL, HDL şi a chilomicronilor. Stimulează lipoproteinlipaza care hidrolizează TAG din VLDL şi chilomicroni.

Concentraţia plasmatică este cuprinsă între 4-6 mg/100 ml.

Apolipoproteina C-III intră în constituţia chilomicronilor, VLDL şi HDL. Ea inhibă lipoproteinlipaza şi clearance-ul chilomicronilor şi particulelor reziduale de VLDL.

Concentraţia plasmatică este cuprinsă între 12-14 mg/100 ml.

Apolipoproteina D este sintetizată de gonade, rinichi, ficat, placentă şi intestin. Intră în constituţia HDL. Intervine în metabolismul esterilor de colesterol şi în transportul acestora între diverse proteine.

Concentraţia plasmatică este cuprinsă între 3-5 mg/100 ml.

Apolipoproteina E este sintetizată de ficat, intestin, suprarenale, macrofage şi se găseşte în chilomicroni, VLDL, IDL şi HDL. Este ligand pentru receptorii LDL şi IDL.

Concentraţia plasmatică este cuprinsă între 6-7 mg/100 ml.

Prezenţa apolipoproteinelor face însă ca lipoproteinele să fie veritabile structuri funcţionale, nu numai simple elemente de transport al lipidelor. De exemplu, prezenţa apolipoproteinelor B100 şi E la nivelul IDL şi LDL permite ca aceste particule să poată fi captate de diverse structuri prin intermediul receptorilor pentru HDL şi LRP, şi în special de ficat. VLDL sunt mai puţin captate, deoarece pe lângă apolipoproteinele B100 şi E conţin de asemenea apolipoproteinele C, care împiedică captarea lor. Chilomicronii, care se formează la nivelul celulelor intestinale, conţin varianta B48 a apolipoproteinei B100, astfel încât nu se pot fixa de receptorii pentru HDL şi de LRP, iar HDL conţin apolipoproteine de tip A, care nici ele nu se pot fixa la acest nivel.

In plus de aceasta, prezenţa unei cantităţi mari de apolipoproteine C-II la nivelul chilomicronilor şi VLDL face ca aceste apolipoproteine să activeze lipoprotein lipaza, enzima care hidrolizează trigliceridele conţinute în aceste lipoproteine. Acizii graşi eliberaţi în urma acestei hidrolize sunt preluaţi la nivelul capilarelor din ţesutul adipos şi muscular. La nivelul ţesutului adipos, acizii graşi sunt reesterificaţi cu glicerolul şi depozitaţi ca trigliceride. La nivelul muşchilor, sunt utilizaţi ca sursă de energie.

Apolipoproteinele A-I şi A-IV, care stimulează lecitin-colesterol-acetiltransferaza, fac ca lipoproteinele HDL care le conţin să fie adevărate colectoare de colesterol liber, pe care îl esterifică şi îl înglobează în miezul lipoproteinei. Astfel, aceste apolipoproteine pot chiar să extragă colesterolul din pereţii vaselor sanguine, protejând faţă de procesul de ateroscleroză.

Interacţiunile între lipoproteine şi interacţiunile între lipoproteine şi alte structuri, în special vase sanguine, intestin, ficat, muşchi şi ţesut adipos, fac sa existe un adevărat sistem funcţional al lipidelor, care urmează un anume circuit şi este supus anumitor sisteme de autoreglare.

CHILOMICRONII

Chilomicronii (Figura IV.4) se formează în enterocite din lipidele alimentare (în principal din trigliceride dar şi din colesterol). Au densităţi mai mici decât ale serului şi, prin păstrarea lor la rece, chilomicronii se ridică la suprafaţă sub forma unui strat cremos. Ei sunt sintetizaţi în celulele mucoasei intestinale; din enterocite, chilomicronii sunt eliberaţi în limfă şi în circulaţia sistemică prin canalul toracic, producând lactescenţa serului. Chilomicronii participă la transportul triacilglicerolilor, colesterolului şi fosfolipidelor din intestin spre ţesutul adipos şi ficat.

Chilomicronii constituie principalele forme de transport a lipidelor exogene (alimentare). Trigliceridele reprezintă 90 % din constituienţii lor lipidici.

Catabolismul chilomicronilor cuprinde hidroliza trigliceridelor sub acţiunea unei enzime, lipoprotein lipaza (LPL), localizată la nivelul celulelor endoteliului capilar din ţesutul adipos, muşchiul scheletic şi cardiac, glandele mamare, plămâni, splină, rinichi, având ca rezultat eliberarea acizilor graşi liberi. Aceştia pot fi utilizaţi ca sursă de energie de aceste ţesuturi (pe calea β-oxidării), sau pot fi depozitaţi după re-esterificare sub formă de trigliceride în ţesutul adipos. Alternativ, acizii graşi pot fi legaţi de albumina serică şi transportaţi spre alte ţesuturi. Lipoprotein-lipaza este activată de apo C-II, componentă a chilomicronilor, care este primită în prealabil de la HDL, veritabile "rezervoare de apo C".

Afinitatea LPL pentru TAG chilomicronilor diferă de la ţesut la ţesut. Astfel, LPL din inimă are constanta Michaelis K_M de 10 ori mai mică decât enzima din ţesutul adipos. Această diferenţă explică de ce în condiţii de inaniţie, când are loc diminuarea concentraţiei TAG, enzima miocardică rămâne saturată vizavi de substratul său, iar activitatea enzimei din adipocite scade, ceea ce va determina redistribuţia TAG din ţesutul adipos spre inimă, unde vor fi hidrolizaţi de LPL. Acizii graşi rezultaţi vor fi utilizaţi în celulele miocardice ca material energetic.

S-a observat că LPL este produsă şi de macrofagele din intima arterelor, existând date experimentale conform cărora LPL din macrofage ar putea juca un rol important în procesul aterosclerozei. Cantitatea de LPL sintetizată de macrofage este influenţată de stresul oxidativ.

Cercetările au arătat că mutaţiile la nivelul genei ce codifică LPL pot afecta activitatea enzimei, determinând o dezvoltare mai rapidă a leziunilor aterosclerotice. Pe măsură ce trigliceridele din chilomicroni sunt hidrolizate prin acţiunea LPL, aceştia devin mult mai mici.

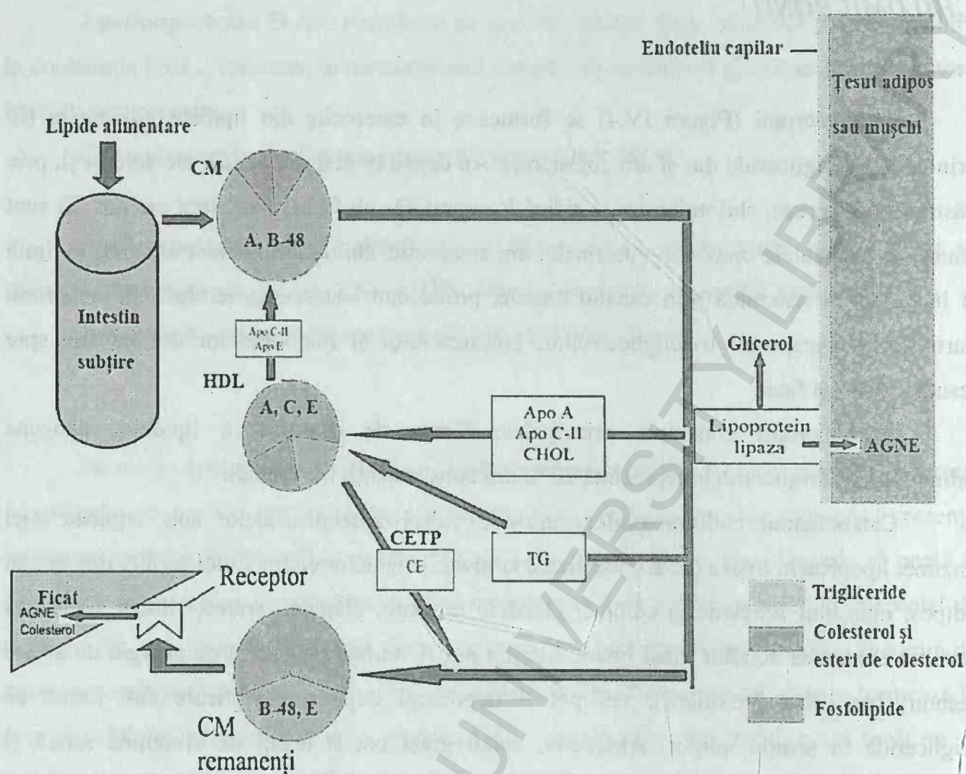


Figura IV.4. Metabolismul chilomicronilor

Chilomicronii transportă trigliceridele alimentare la țesuturi, fiind hidrolizați sub acțiunea lipoprotein lipazei (LPL). Particulele reziduale sau remanente sunt epurate de către ficat. Ele se leagă la receptorii particulelor remanente (ce recunosc apo E) la nivelul celulelor hepatice, fiind internalizate și catabolizate. Apolipoproteinele A și apo B-48 sunt sintetizate în celulele intestinale; apo C și apo E sunt cedate sub formă de esteri de colesterol (CE). Apoproteina C-II activează lipoprotein lipaza. Pe măsură ce hidroliza trigliceridelor are loc în interiorul chilomicronilor, apo A, apo C, colesterolul și fosfolipidele sunt eliberate la suprafață și transferate la HDL care esterifică colesterolul. Esterii de colesterol sunt transferați în retur la particulele remanente prin schimbul de trigliceride facilitat de către proteina de transport a esterilor de colesterol (CETP).

AGNE: acizi grași neesterificați; CM: chilomicroni; CETP: proteina care transferă esterii de colesterol (CETP = cholesteryl ester transfer protein); CHOL: colesterol.

După acţiunea LPL asupra chilomicronilor, apo-A, apo C-II, colesterolul şi fosfolipidele sunt eliberate de la suprafaţa acestor particule şi captate mai departe de HDL. Treptat, chilomicronii devin particule reziduale numite chilomicroni remanenţi, având în compoziţia lor mai ales apolipoproteinele B-48 şi E. Aceşti chilomicroni reziduali, săraci în trigliceride şi bogaţi în esteri de colesterol, sunt epuraţi din circulaţia sanguină de către celulele hepatice parenchimatoase. La nivelul ficatului, chilomicronii remanenţi depind de recunoaşterea apo E de către receptorii hepatocelulari specifici numiţi şi receptori LRP (*LDL-related receptor protein*) şi componentele lor lipidice sunt catabolizate sub influenţa enzimelor lizozomale.

METABOLISMUL VLDL (PRE-β-LIPOPROTEINE)

Funcţia principală a VLDL este transportul trigliceridelor sintetizate în ficat spre ţesuturile extrahepatice.

VLDL se formează într-o proporţie de 80 % în ficat din trigliceridele sintetizate la acest nivel, fie *de novo*, fie prin re-esterificarea acizilor graşi liberi prin esterificarea acizilor graşi liberi (Figura IV.5). De asemenea, într-o măsură mai mică, VLDL se formează şi în intestin din trigliceridele exogene. Procesul de asamblare a VLDL are loc în reticulul endoplasmic. Pentru acest proces sunt utilizaţi în principal TAG din citosol. Acizii graşi din plasmă sunt iniţial esterificaţi pe suprafaţa citosolică a reticulului endoplasmic în TAG care intră într-o proporţie redusă în VLDL şi trec preponderent în citosol. TAG citosolici sunt hidrolizaţi de o lipază specifică, iar acizii graşi rezultaţi pătrund în reticulul endoplasmic, unde sunt esterificaţi sub formă de TAG care servesc ca precursori în sinteza VLDL. Prin unirea componentelor lipidice cu apolipoproteinele B-100 şi E în reticulul endoplasmatic, rezultă particulele prelipoproteice. Acestea trec în aparatul Golgi, unde are loc formarea veziculelor secretoare din care VLDL sunt eliberate în circulaţie.

În sânge, VLDL primesc apolipoproteinele C de la HDL, între care apolipoproteina C-II, cofactor al LPL. S-a constatat că diminuarea cantităţii de apolipoproteină C-II este asociată cu scăderea activităţii LPL şi acumularea de chilomicroni şi VLDL.

La nivelul ţesuturilor extrahepatice, TAG din componenţa VLDL sunt hidrolizaţi de LPL în acizi graşi şi glicerol.

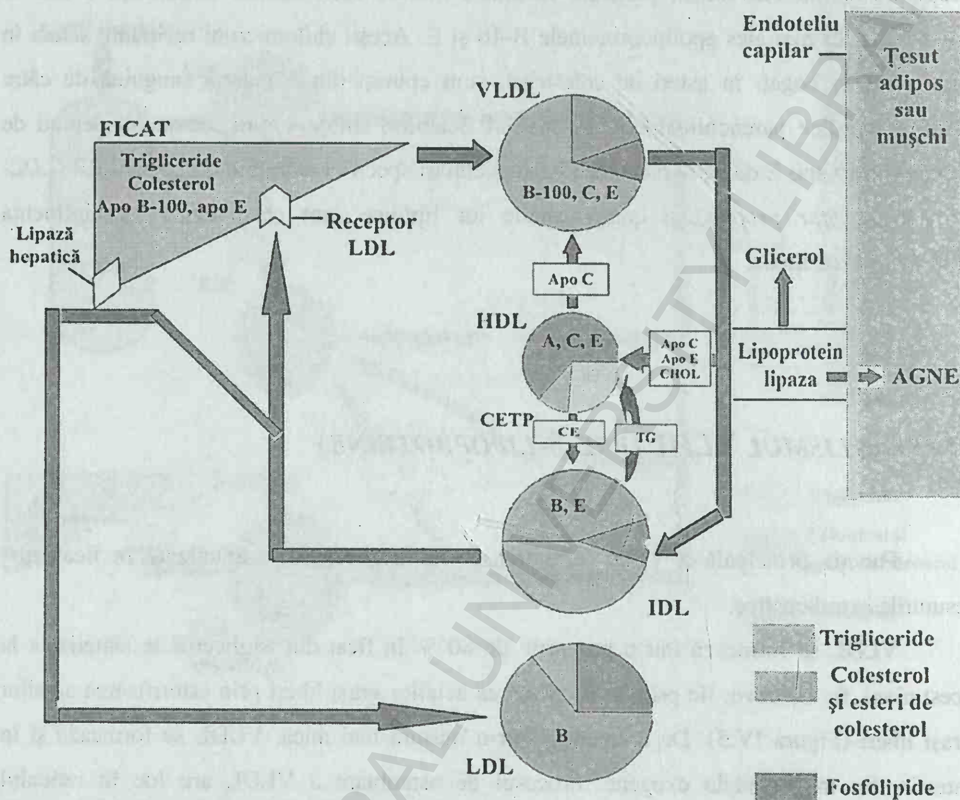


Figura IV.5. Metabolismul VLDL

VLDL sintetizate în ficat, transportă trigliceridele endogene din ficat spre alte țesuturi, fiind hidrolizate sub acțiunea lipoprotein lipazei. În același timp, colesterolul, fosfolipidele, apo C și apo E sunt eliberate și transferate la HDL. În acest fel, VLDL sunt convertite în IDL. Esterii de colesterol sunt transferați de la HDL la IDL cu ajutorul CETP. Câteva IDL sunt epurate de ficat, dar, pentru majoritatea, hidroliza trigliceridelor are loc sub acțiunea lipazei pancreatice; ele sunt astfel convertite în IDL. Din această cauză, VLDL bogate în trigliceride, sunt precursorii LDL, care conțin în principal esteri de colesterol și apo B-100.

AGNE: acizi grași neesterificați; CETP: proteina care transferă esterii de colesterol (CETP = cholesteryl ester transfer protein); CHOL: colesterol.

Endoteliile vasculare ale muşchiului scheletic, inimii, ţesutului adipos şi creierului conţin un receptor care recunoaşte VLDL prin intermediul apolipoproteinei E. Acest receptor poate juca un rol important în catabolizarea VLDL de către ţesuturile periferice.

În plasmă, VLDL cedează de la suprafaţa lor, colesterolul liber, triacilglicerolii şi fosfolipidele particulelor de HDL. Totodată are loc o deplasare a apolipoproteinelor C şi E din VLDL înapoi spre HDL. Ca rezultat al acestui schimb şi al acţiunii LPL, VLDL se transformă în lipoproteine intermediare (IDL) conţinând aproape numai apolipoproteinele B-100 şi E.

O parte din IDL este captată de ficat via receptori LDL. Aceşti receptori numiţi şi „receptori B, E" sunt capabili de a se lega la apo B şi apo E. În stare fiziologică există foarte puţin IDL în circulaţie datorită captării lor rapide sau conversiei în LDL.

Metabolizarea IDL se poate realiza pe două căi. O cale constă în fixarea IDL de receptorii hepatici specifici. Altă posibilitate are în vedere pătrunderea IDL în spaţiile Disse hepatice, unde suportă un nou atac lipolitic al lipazei hepatice şi pierd apolipoproteina E. În felul acesta IDL devin LDL.

METABOLISMUL LDL (β-LIPOPROTEINE)

Lipoproteinele cu densitate mică sunt în principal transportorii de colesterol, în principal în forma sa esterificată, având rolul de a furniza colesterol diverselor ţesuturi. LDL au în structura lor o singură apolipoproteină: apolipoproteina B-100. LDL circulă în sânge spre ficat sau spre ţesuturile periferice. În 24 de ore, aproape jumătate din cantitatea de LDL circulantă este îndepărtată din plasma umană cu ajutorul ficatului şi a ţesuturilor extrahepatice (în particular glandele suprarenale şi ţesutul adipos).

LDL nu sunt sintetizate direct, ci se formează din VLDL, via IDL (Figura IV.5). LDL pot trece prin joncţiunile intercelulare, ajung între celulele endoteliale capilare şi se fixează pe receptorii LDL din membranele celulare, care recunosc apo B-100. Receptorul LDL în membranele plasmatice este o glicoproteină de 115 kDa, cu 839 aminoacizi.

Această recunoaştere este urmată de endocitarea complecşilor receptori - LDL în celulă sub formă de vezicule care fuzionează cu lizozomii. Particulele de LDL sunt degradate de proteazele şi lipazele acide lizozomale, cu eliberarea colesterolului liber (figura IV.6).

De asemenea, poate avea loc o sinteză de colesterol în acest ţesut, dar enzima limitantă hidroximetilglutaril CoA reductaza (HMG-Co A) este inhibată de colesterol, în aşa

fel încât la adulţii sănătoşi nu există probabil o sinteză de colesterol în celulele periferice.

Colesterolul liber rezultat astfel poate fi implicat în:

- biosinteza membranelor;
- inhibiţia β-hidroxi-β-metilglutaril-CoA reductazei (HMG-Co A), enzimă limitantă în sinteza colesterolului;
- activarea acil-CoA: colesterol aciltransferazei care catalizează esterificarea colesterolului intracelular cu acil-CoA; colesterolul reesterificat conţine mai ales acid oleic şi acid palmitoleic, care sunt acizi graşi mononesaturaţi, în timp ce esterii de colesterol în LDL sunt bogaţi în acid linoleic;
- modularea sintezei receptorilor LDL şi prin urmare limitarea captării LDL;
- depozitarea sa în celulă sub formă esterificată (atunci când este în exces).

Receptorii LDL sunt saturabili şi supuşi unui control negativ sub efectul creşterii colesterolului intracelular.

Gena pentru receptorul LDL, asemănător cu cea pentru reductază, conţine un element reglator sterolic care controlează rata de sinteză a ARNm.

Prin urmare, LDL intervine în transportul colesterolului spre organele periferice şi în reglarea sintezei colesterolului *de novo* în situsurile respective. Pe lângă reglarea cantităţii de coelsterol, metabolismul LDL mai intervine şi în reglarea nivelului plasmatic al LDL. Numărul receptorilor pentru LDL variază în funcţie de cantitatea de particule lipoproteice la care sunt expuse celulele; există o relaţie inversă între concentraţia LDL şi numărul de receptori. În acest fel, pe de o parte se previne acumularea colesterolului în celule, iar pe de altă parte este posibilă acoperirea nevoilor celulare în colesterol în cazul unor concentraţii scăzute de lipoproteine extracelulare. În mod normal, în stare staţionară, numărul receptorilor este mediu iar cantităţile de colesterol obţinute din LDL împiedică acumularea în exces a colesterolului. Scăderea concentraţiei de LDL determină creşterea numărului de receptori membranari şi intensificarea captării LDL. Creşterea concentraţiei LDL provoacă efecte inverse. În primul rând are loc o saturare a receptorilor cu LDL, ceea ce furnizează mai mult colesterol celulei. Pe lângă inhibiţia sintezei de novo a colesterolului, are loc şi o scădere a numărului receptorilor LDL, celula revenind la o stare staţionară.

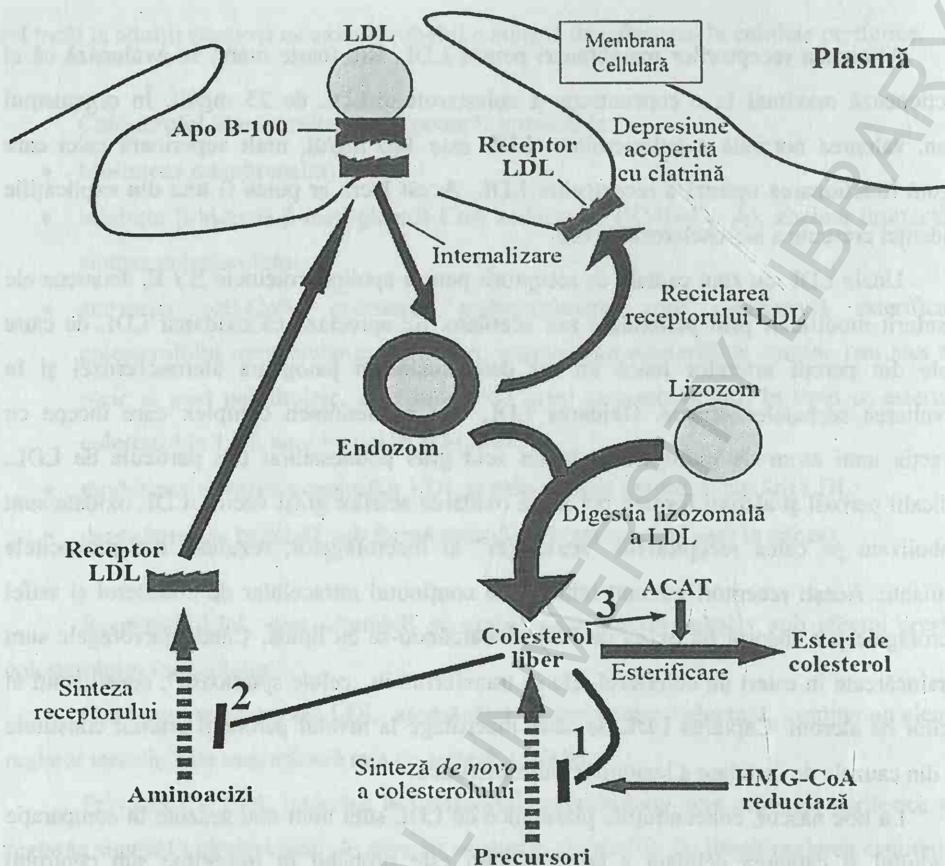
Afinitatea receptorilor membranari pentru LDL este foarte mare, se evaluează că ei funcționează maximal la o concentrație a colesterolului-LDL de 25 mg/dl. În organismul uman, valoarea normală a colesterolului LDL este 120 mg/dl, mult superioară celei care asigură funcționarea optimă a receptorilor LDL. Acest lucru ar putea fi una din explicațiile incidenței crescute a aterosclerozei la om.

Unele LDL nu sunt captate de receptorii pentru apolipoproteinele B / E, deoarece ele au suferit modificări prin peroxidare sau acetilare. Se apreciază că oxidarea LDL de către celule din pereții arterelor joacă un rol determinant în patogenia aterosclerozei și în dezvoltarea sechelelor clinice. Oxidarea LDL este un fenomen complex care începe cu extracția unui atom de hidrogen de la un acid gras polinesaturat din particula de LDL. Radicalii peroxil și alcoxil formați pot iniția oxidarea acizilor grași vecini. LDL oxidate sunt catabolizate pe calea receptorilor "scavenger" ai macrofagelor, rezultate din monocitele circulante. Acești receptori nu sunt inhibați de conținutul intracelular de colesterol și astfel macrofagele pot absorbi un exces de LDL, încărcându-se cu lipide. Când macrofagele sunt supraîncărcate în esteri de colesterol, ele se transformă în „celule spumoase", constituenți ai plăcilor de aterom. Captarea LDL de către macrofage la nivelul peretelui arterial constituie una din cauzele de instalare a leziunilor aterosclerotice.

La nou născut, concentrațiile plasmatice de LDL sunt mult mai scăzute în comparație cu adultul și captarea celulară a colesterolului este probabil în întregime sub controlul receptorilor.

Concentrațiile de LDL cresc în timpul copilăriei și ating valori normale specifice adultului, după pubertate.

Având în vedere rolul LDL ca furnizor de colesterol pentru țesuturile extrahepatice, concentrațiile colesterolului-LDL și apolipoproteinei B au valoare predictivă mult mai bună decât colesterolemia totală ca factori de risc în ateroscleroză. Creșterea acestor parametri se corelează cu riscul de a face ateroscleroză.



ACAT = Acil CoA : colesterol acil transferază
HMG-CoA = Hidroximetilglutaril CoA

Figura IV.6. Captarea şi catabolismul LDL

LDL rezultă din VLDL via IDL. LDL sunt captate de ficat şi de alte ţesuturi prin recunoaşterea apo B-100 de către receptorul LDL. Particulele de LDL sunt hidrolizate de enzimele lizozomale, care antrenează eliberarea colesterolului liber ce inhibă HMG-CoA reductaza, enzimă limitantă a sintezei de colesterol, inhibă sinteza receptorului LDL şi stimulează esterificarea colesterolului prin creşterea activităţii acil CoA:colestrol acil transferazei (ACAT); AGNE: acizi graşi neesterificaţi.

METABOLISMUL HDL (α-LIPOPROTEINELE)

HDL plasmatice (figura IV.7) se sintetizează în ficat (80 %) şi intestin (20 %), sau se formează din chilomicroni şi VLDL. În timpul lipolizei se realizează schimburi permanente de lipide şi apolipoproteine între diferite clase de lipoproteine.

Există patru subclase de HDL : HDL1, HDL2, HDL3, şi lipoproteine cu densitate foarte mare (VHDL). HDL2 şi HDL3 sunt cele mai importante şi rezultă în urma principalelor transformări metabolice. Primele HDL secretate în circulaţia sanguină de hepatocite, numite HDL născânde, conţin fosfolipide, un procent scăzut de colesterol, apo E şi apo A, dar nu conţin esteri de colesterol. Particulele acestor lipoproteine prezintă o formă discoidală. În circulaţie, ele captează apo A şi apo E de la alte lipoproteine şi din ţesuturile extrahepatice, ceea ce conduce la o formă sferică. Treptat, aceste particule se îmbogăţesc în colesterol şi în fosfolipide. Pe măsura captării colesterolului celular, are loc esterificarea colesterolului sub acţiunea enzimei lecitin : colesterol acil transferaza (LCAT) prezentă în HDL născânde. LCAT catalizează reacţia dintre colesterol şi fosfatidilcolină, conducând la colesteride. LCAT este o glicoproteină cu M = 59.000 Da. Această enzimă este asociată cu HDL în plasma sanguină şi este activată de apolipoproteina A-1 şi inhibată de apolipoproteina A-2 care intră în structura acestor lipoproteine.

Cercetări recente au arătat că în organismul persoanelor cu risc crescut de ateroscleroză este prezentă o LCAT care sintetizează esteri de colesterol preferenţial pornind de la acizi graşi saturaţi, spre deosebire de enzima de la persoanele normale cu specificitate pentru acizii graşi nesaturaţi. Cu complexul LCAT - HDL este asociată proteina CETP (CETP = *cholesteryl ester transfer protein*), care favorizează transferul esterilor de colesterol din HDL la VLDL sau LDL. CETP reprezintă o glicoproteină hidrofobă care se sintetizează în special în ficat şi ţesutul adipos.

Hipercolesterolemia şi hipertriacilglicerolemia stimulează funcţia CETP, iar hipotiroidismul diminuează acţiunea acestei proteine. De asemenea, la subiecţii cu afecţiuni cardio-vasculare şi la cei cu diabet insulino-dependent se observă o creştere a transferului realizat de CETP. Esterii de colesterol formaţi datorită LCAT, fiind mai hidrofobi, părăsesc suprafaţa HDL şi trec în mijlocul particulelor. Ca rezultat, forma lor discoidală devine sferică, apărând astfel HDL3. Ele reprezintă HDL de talie mică şi de densitate mare, fiind capabile de a primi colesterol si de a-l esterifica cu ajutorul LCAT. Aceste lipoproteine se transformă în HDL de talie mare, HDL2 cu densitate mai mică dar mai bogate în triacilgliceroli, având rolul

de a transporta steridele spre ficat sau spre alte lipoproteine (VLDL şi LDL). Deci, HDL2 sunt adevăratele lipoproteine antiaterogene, întrucât ele epurează excesul de colesterol.

La nivelul ficatului, colesterolul liber poate fi eliminat în bilă sau poate servi pentru sinteza acizilor biliari. Lipaza hepatică hidrolizează triacilglicerolii şi fosfolipidele din HDL2, permiţând conversia reversibilă a acestora în HDL3, care intră în circulaţie.

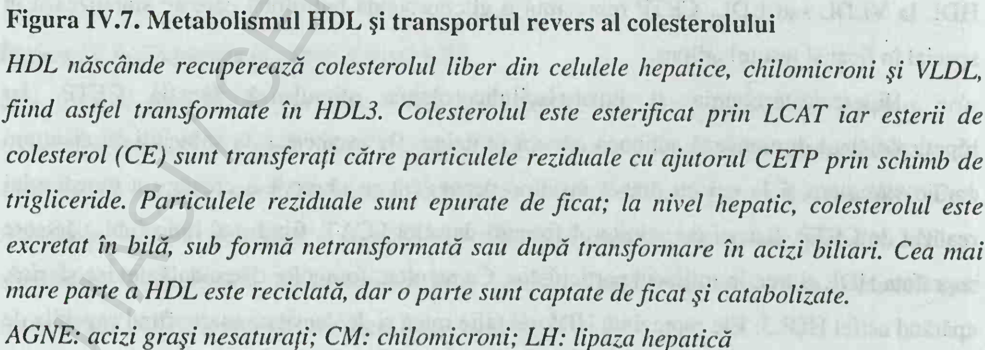


Figura IV.7. Metabolismul HDL şi transportul revers al colesterolului

HDL născânde recuperează colesterolul liber din celulele hepatice, chilomicroni şi VLDL, fiind astfel transformate în HDL3. Colesterolul este esterificat prin LCAT iar esterii de colesterol (CE) sunt transferaţi către particulele reziduale cu ajutorul CETP prin schimb de trigliceride. Particulele reziduale sunt epurate de ficat; la nivel hepatic, colesterolul este excretat în bilă, sub formă netransformată sau după transformare în acizi biliari. Cea mai mare parte a HDL este reciclată, dar o parte sunt captate de ficat şi catabolizate.
AGNE: acizi graşi nesaturaţi; CM: chilomicroni; LH: lipaza hepatică

În concluzie, caracteristicile principale ale metabolismului lipoproteinelor sunt următoarele:

- trigliceridele din alimentație sunt vehiculate de chilomicroni până la țesuturi, care le utilizează ca sursă de energie sau le stochează;
- trigliceridele endogene, sintetizate de ficat, sunt transportate de VLDL și sunt de asemenea utilizate de țesuturi ca sursă energetică sau ca depozite;
- colesterolul este sintetizat de ficat și transportat la țesuturi de LDL, care provine din VLDL; colesterolul din alimentație este vehiculat până la ficat de chilomicronii remanenți;
- HDL recuperează colesterolul din celulele periferice și din alte lipoproteine și îl esterifică datorită LCAT. Esterii de colesterol sunt transferați particulelor reziduale, care sunt captate de ficat asigurând astfel excreția colesterolului.

EXPLORAREA BIOLOGICĂ A METABOLISMULUI LIPIDIC

La naștere, concentrația plasmatică în colesterol este foarte scăzută (colesterol total sub 2,6 mmol/l, colesterol LDL sub 1,0 mmol/l). Aceste valori cresc rapid în primul an de viață. Valoarea medie a colesterolului, observată în timpul copilăriei este de 4,2 mmol/l. În societățile de consum, concentrația colesterolului crește pe măsură ce vârsta înaintează.

O concentrație crescută de colesterol în sânge reprezintă un factor major de risc cardiovascular. Unul din principalii factori de risc pentru cardiopatia ischemică este nivelul crescut al colesterolului total (CT) din ser și al colesterolului conținut în LDL.

Comparând nivelul colesterolului seric și mortalitatea prin cardiopatie ischemică în comunitățile umane din 17 țări ale lumii, N.Wald și M.Law (1994), în studii la scară internațională, au evidențiat că țările unde se ating supranivele de CT circulant au cele mai înalte rate de decese prin cardiopatie ischemică. După studiul din Framingham, persoanele cu colesterol total (CT) de 300 mg/dl (7,8 mmol/l) sunt afectate de cardiopatia ischemică de 3-5 ori mai frecvent, comparativ cu persoanele prezentând valori de 150 mg/dl (5,2 mmol/l). 90 % din pacienții cu valori ale colesterolului peste 300 mg/dl (7,8 mmol/l) prezintă șanse de a dezvolta cardiopatia ischemică în următorii 16-30 de ani.

În timp ce există o relație bine stabilită între colesterol (în particular colesterol-LDL) și creșterea riscului cardiovascular, se observă o relație inversă între HDL și același risc

cardiovascular. Principalii factori fiziologici care influențează colesterolul-LDL și colesterolul-HDL pot fi urmăriți în tabelul IV.3.

Tabelul IV.3. Factorii care influențează variația lipoproteinelor plasmatice
F: femei ; B: bărbați

Factori	Colesterol HDL	Colesterol LDL	Trigliceride
Sex	F > B	F = B	F < B
Vârstă	↑ moderată (F)	↑	↑
Raport alimentar acid gras polinesaturat / acid gras saturat	↓ sau fără efect semnificativ	↓	↓ sau fără efect semnificativ
Exerciții	↑	↓	↓
Obezitate	↓	Fără efect semnificativ	↑
Alcool	↑	Fără efect semnificativ	↑
Estrogeni endogeni	↑	↓	↑

Hipertrigliceridemia reprezintă și ea un factor de risc cardiovascular (probabil mai mult la femei decât la bărbați). Hipertrigliceridemia ce implică LDL mici și dense, bogate în trigliceride (LDL3), adesea regăsite în contextul diabetului de tip 2, prezintă o mare importanță deoarece aceste particule sunt mult mai aterogene decât celelalte clase de LDL. Valori ale trigliceridemiei mai mari de 10 mmol/l reprezintă un factor de risc pentru pancreatită.

Trigliceridele, colesterolul total și colesterolul HDL pot fi ușor dozate în laborator. Colesterolul LDL poate fi calculat pornind de la formula lui Friedewald:

Colesterol LDL= Colesterol total – (Colesterol HDL + Trigliceride/2,2)

în care concentrațiile sunt exprimate în mmol/l

Această formulă nu se aplică atunci când concentrația în trigliceride depășește 4,5 mmol/l.

Separarea lipoproteinelor prin ultracentrifugare nu este o tehnică ușoară, de rutină, fiind rezervată cercetării. Cealaltă metodă, separarea lipoproteinelor prin electroforeză, a fost larg utilizată, însă ea nu ne dă decât informații calitative și de aceea o putem considera demodată.

Analiza genotipică sau fenotipică a apo E este necesară pentru confirmarea diagnosticului de disbetalipoproteinemie.

Dozarea activității lipoprotein lipazei și determinrea apo C-II sunt indicate în diagnosticul hiperchilomicronemiei.

Aspectul serului constituie pentru un biolog primul element de investigare a unei anomalii lipidice.

Fiziologic, à jeun, serul este limpede. După ingestia de alimente, el devine adesea opalescent, datorită proprietăților de dispersie a luminii de către chilomicroni și VLDL. Pornind de la o concentrație în trigliceride de 4 mmol/l, turbiditatea serului crește din ce în ce mai mult. În hipertrigliceridemiile severe, serul ia un aspect lăptos (lipemic). Dacă serul este lăsat în repaus, chilomicronii plutesc la suprafață, lăsând partea inferioară clară, iar VLDL rămân în suspensie. LDL nu dispersează lumina și, chiar la concentrații mari ale acestora, serul rămâne clar.

PATOLOGIA METABOLISMULUI LIPIDIC

Dislipidemia, situație anormală a fracțiunilor lipidice din plasmă, reprezintă unul dintre factorii cu mare prevalență, incluzând o serie de tulburări ale metabolismului lipidic mai mult sau mai puțin acceptate ca fiind responsabile de inducerea și întreținerea fenomenului aterosclerotic: de la anomaliile clasice (creșterea colesterolului total, a LDL-colesterolului și scăderea HDL-colesterolului) la mai noile elemente ale dezechilibrului lipidic (modificările apolipoproteinelor, creșterea numărului de particulele LDL mici și dense, a lipoproteinelor bogate în trigliceride și a fragmentelor acestora).

Se cunosc numeroase maladii ereditare rare, asociate printre altele cu o acumulare tisulară de lipide, dar și altele, caracterizate printr-o diminuare a concentrației plasmatice a anumitor clase de lipoproteine. În același timp, cele mai frecvente sunt de departe

hiperlipidemiile. Hiperlipidemia este definită ca o stare în care concentraţiile de lipide din ser depăşesc valorile normale.

Hiperlipidemiile sunt clasificate în forme primare, ce cuprind afecţiunile cu determinism genetic stabilit, şi formele secundare sau hiperlipidemiile dobândite (cauzate de boală sau de factorii de mediu).

Hiperlipidemiile sunt obişnuit împărţite în 5 tipuri după recomandările Organizaţiei Mondiale a Sănătăţii (OMS), pe baza clasificării lui Fredrickson (Tabelul IV.4). Este vorba de o clasificare fenotipică bazată pe observaţia anomaliilor metabolismului lipoproteinelor.

În decursul timpului, au apărut numeroase insuficienţe: în anumite hiperlipidemii ereditare, acelaşi genotip poate exprima numeroase fenotipuri în funcţie de individ; în aceeaşi măsură, fenotipurile asociate hiperlipidemiilor secundare sunt variabile; în formele primare sau secundare, tratamentul medicamentos poate modifica fenotipul, iar clasificarea nu ţine cont de colesterolul HDL.

Tabel IV.4. Clasificarea după Fredrickson a dislipidemiilor.

Tip	Creşterea fracţiunii lipoproteinei implicate	Fenotipul bilanţului lipidic	Afecţiunea familială
I	Chilomicronii	Trigliceride ↑↑↑	Hiperchilomicronemie familială
IIa	LDL	Colesterol ↑	Hipercolesterolemie familială Deficit familial de apoβ Hiperlipemie combinată familială
IIb	LDL, VLDL	Trigliceride ↑ Colesterol ↑	Hiperlipemie combinată familială
III	LDL sau beta-VLDL	Trigliceride ↑ Colesterol ↑	Disbetalipoproteinemie familială
IV	VLDL	Trigliceride ↑	Hipertrigliceridemie familială Hiperlipemie combinată familială
V	VLDL şi chilomicroni	Trigliceride ↑↑↑ Colesterol ↑	Hipertrigliceridemie severă familială

Hiperlipidemiile secundare

Hiperlipidemiile secundare sunt frecvente şi, în măsura în care normalizarea bilanţului lipidic este o consecinţa unui tratament adecvat a cauzei subiacente, supravegherea lor trebuie să fie de natură cauzală. Cu toate că prezenţa unei anomalii primare este asociată cu istoricul familial, importantă este întotdeauna excluderea unei origini secundare în explorarea unui pacient dislipidemic. Uneori, o etiologie secundară poate coexista cu o anomalie primară şi poate exacerba manifestările acesteia din urmă.

Astfel de hiperlipemii pot apare în condiţii extrem de variate, având cauze diferite:

- **Endocrine:** diabet zaharat, hipotiroidism, sindrom Cushing, boala Addison, acromegalia, hormoni estrogeni, progesteron;
- **Renale:** sindrom nefrotic, insuficienţă renală cronică;
- **Hepatice:** colestază, insuficienţă hepatocelulară;
- **Nutriţionale:** dietă bogată în grăsimi saturate, obezitate, sedentarism, consumul în exces de alcool;
- **Medicamente:** beta-blocante, diuretice tiazidice, steroizi, agenţi inductori ai sistemului enzimatic microzomal;

Modificările cele mai frecvente asociate celor ai întâlnite dislipidemii secundare sunt prezentate în tabelul IV.5.

Tabel. IV.5. Principalele tulburări asociate celor mai frecvente hiperlipidemii secundare

N - normal ; m - moderat ; ↑- creştere ; ↓- scădere

Cauze secundare	Anomalii lipidice		
	Colesterol-HDL	Colesterol LDL	Trigliceride
Obezitate	↓	N	↑
Alcoolism	↑	N	↑
Diabet zaharat	N / ↓m	N	↑↑
Hipotiroidie	N	↑↑	N↑
Sindrom nefrotic	↓	↑↑	↑↑
Insuficienţă renală cronică	↓	N / ↑	↑
Colestază	N	↑	N

În cele ce urmează sunt discutate doar câteva hiperlipoproteinemii secundare mai frecvent întâlnite.

Hiperlipemia din diabetul zaharat

Diabetul zaharat antrenează de cele mai multe ori anomalii ale profilului lipidic, iar depistarea acestuia la pacientul dislipidemic este importantă deoarece această asociere comportă un risc cardiovascular crescut, cât şi un risc precoce de complicaţii macrovasculare.

În diabetul de tip 1 în stadiul iniţial, atunci când este perturbat echilibrul glicemic, se poate adesea întâlni o hipertrigliceridemie marcată (manifestată prin creşterea concentraţiei lipoproteinelor cu densitate foarte joasă VLDL, uneori a chilomicronilor), legată de diminuarea activităţii lipoprotein lipazei (stimulată de insulină) şi creşterea activităţii lipazei hormono-sensibilă (inhibată de insulină). În final are loc creşterea fluxului de acizi graşi ne-esterificaţi plecând de la ţesutul adipos, ei reprezentând în acelaşi timp şi substratul pentru sinteza hepatică de trigliceride. Cele două fenomene sunt reversibile sub tratament insulinic. Astfel, hipertrigliceridemia este destul de bine corelată la echilibrul glicemic. Concentraţiile lipoproteinelor cu densitate joasă (LDL) pot fi şi ele crescute, în timp ce acelea cu densitate înaltă (HDL) sunt scăzute.

Prezenţa unei hiperlipoproteinemii la diabeticul insulinodependent echilibrat poate sugera asocierea unei dislipidemii primare.

Diabetul zaharat de tip 2 (noninsulinodependent) şi, implicit, ansamblul anomaliilor metabolice apărute în cadrul sindromul metabolic, constituie cea mai frecventă cauză de dislipidemie secundară. Diabetul zaharat de tip 2 se prezintă cu o întreagă gamă de anomalii lipidice, dintre care hipertrigliceridemia este dominantă, fiind datorată în principal creşterii sintezei hepatice. Studiile arată că 30-40 % dintre diabetici prezintă valori ale trigliceridelor plasmatice mai mari de 200 mg/dl, iar 10 % valori de peste 400 mg/dl. În acest caz, hipertrigliceridemiei i se asociază şi un nivel ridicat al VLDL colesterolului, LDL colesterol cu valori normale sau crescute (particule mici, dense, cu potential aterogen crescut) şi HDL colesterol plasmatic redus.

Controlul strict al diabetului îmbunătăţeşte frecvent şi controlul hiperlipidemiei, dar având în vedere că hiperlipidemia constituie un factor de risc cardiovascular major la diabetici, aceasta trebuie tratată agresiv pentru a reduce acest risc. O serie de studii, dintre care cităm *UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group*, arată că în ciuda frecvenţei înalte cu care apare hipertrigliceridemia (valoare medie de 159 mg/dl) la pacienţii cu diabet zaharat de tip 2, analiza multivariată nu înscrie nivelul trigliceridelor printre factorii predictori ai

evenimentelor cardiovasculare. LDL-colesterolul s-a dovedit cel mai puternic factor predictor independent al bolii cardiace ischemice, acesta fiind urmat de HDL-colesterol. Hipertrigliceridemia devine un obiectiv primar de tratament la valori mai mari de 500 mg/dl, atunci când există riscul unei pancreatite.

Modificările profilului lipidic descrise mai sus apar frecvent şi la persoanele cu intoleranţă la glucoză, cu insulinorezistenţă sau sindrom metabolic, la care diabetul franc nu este prezent. De fapt, se pare că sindromul metabolic asociază trăsături ale hiperlipidemiei familiale şi trăsături ale diabetului. Trialurile clinice aleatoare au demonstrat indubitabil că tratamentul cu statine s-a dovedit eficient în prevenţia bolii coronariene la diabetici şi poate reduce excesul de mortalitate prin infarct miocardic la aceştia.

Recent, unele studii au arătat că tratamentul cu statine a întârziat chiar instalarea diabetului la anumite subgrupuri populaţionale supuse studiului.

Hiperlipemia din hipotiroidism

Hiperlipidemia din hipotiroidism este caracterizată cel mai frecvent prin niveluri ridicate ale colesterolului total şi în special a fracţiunii sale LDL. Se pare că acest lucru se datorează reducerii numărului de receptori pentru LDL şi IDL şi, implicit, unei încetiniri în procesul de captare şi catabolizare a acestor lipoproteine. De asemenea, este perturbată şi transformarea colesterolului în acizi biliari. Mobilizarea de acizi graşi din ţesutul adipos şi sinteza de trigliceride din ficat sunt diminuate, dar din cauza unui deficit exprimat al mecanismului de hidroliză a trigliceridelor plasmatice (activitatea lipoproteinlipazei şi mai ales a lipazei hepatice mult reduse), nivelul trigliceridelor poate creşte. Hipertrigliceridemia şi clasica creştere a fracţiunii HDL sunt inconstante. Aceste variaţii individuale sunt, probabil, expresia predispoziţiei genetice individuale.

Având în vedere prezentarea clinică insidioasă a acestei entităţi, la pacienţii care prezintă hipercolesterolemie trebuie avută în vedere determinarea tireotropinei (TSH) plasmatice ca metodă de screening.

Prezentăm câteva situaţii în care dozarea TSH este indispensabilă:

1. menopauză, tratament cu amiodaronă;
2. semne clinice minore sau izolate de hipotiroidism;
3. caracterul acut al hiperlipidemiei (bilanţ lipidic normal dovedit în antecedente);
4. absenţa antecedentelor familiale de dislipidemie;

Dozarea hormonilor tiroidieni T4 şi T3 liberi nu este recomandată datorită costurilor nejustificate.

Terapia de substituţie hormonală tiroidiană normalizează hipercolesterolemia. Pacienţii hipotiroidieni care rămân dislipidemici în ciuda tratamentului asociază probabil o dislipidemie primară şi vor necesita administrarea de hipolipemiante.

Depistarea hipotiroidismului prezintă importanţă din cel puţin două motive: terapeutic (trebuie ţinut cont de posibilitatea amplificării afectării musculare la iniţierea tratamentului cu statine) şi cel legat de riscul cardiovascular (hipotiroidismul în sine este un factor de risc cardiovascular chiar în situaţiile în care este subclinic).

Hiperlipemia din bolile renale

Insuficienţa renală cronică reprezintă cea mai frecventă cauză de hiperlipidemie în cadrul bolilor renale şi se prezintă ca o hipertrigliceridemie moderată cu sau fără hipercolesterolemie (alterarea lipolizei şi al clearance-ului lipidic). Screening-ul acestei afecţiuni prin determinări sistematice ale creatininemiei este justificat la pacienţii peste 60 de ani deoarece aproximativ 30 % din acest grup populaţional prezintă alterări ale filtrării glomerulare. Pe de altă parte, există argumente experimentale şi epidemiologice solide că dislipidemia constituie un factor important de progresie a insuficienţei renale. Anomaliile lipidice din boala renală terminală au o amplitudine modestă, însă aceşti pacienţi prezintă un risc înalt de evenimente cardiovasculare şi, în consecinţă, instituirea unei terapii hipolipemiante trebuie luată în considerare (gradul disfuncţiei renale nu se corelează cu intensitatea dereglării lipidice).

Dislipidemia din sindromul nefrotic este mai pronunţată şi este caracterizată de creşteri ale trigliceridelor, colesterolului (hiperproducţie hepatică de VLDL) şi fosfolipidelor.

Analiza detaliată evidenţiază o creştere importantă a LDL-colesterolului şi a apoproteinei B, asociată cu o creştere a VLDL, realizând cel mai adesea fenotipul dislipidemiei IIb. Nu sunt rare şi cazurile în care predomină hipertrigliceridemia, realizându-se aspectele fenotipurilor IV şi V. Aceste modificări sunt corelate cu gravitatea proteinuriei şi tind să revină la normal atunci când survine o remisiune a sindromului nefrotic sau când hipoalbuminemia este corectată cu infuzie de albumină. Toate acestea conduc la concluzia că hiperlipoproteinemia nefroticilor este secundară pierderii de proteine pe cale renală. Scăderea concentraţiei albuminei şi, în consecinţă, a presiunii coloid-osmotice, constituie un important stimul pentru sinteza de proteine şi delipoproteine în ficat.

Rezoluţia sindromului nefrotic ameliorează profilul lipidic, dar în cele mai multe situaţii clinice introducerea medicaţiei hipolipemiante este imperios necesară.

Hiperlipemia alcoolicilor

Efectele consumului de alcool asupra profilului lipidic sunt foarte variabile; pattern-ul cel mai frecvent întâlnit fiind hipertrigliceridemia (ca urmare a inhibării oxidării acizilor graşi la nivel hepatic, cu stimularea producţiei hepatice de VLDL), creşterea colesterolului total (cu sau fără creşterea fracţiunii LDL), dar şi creşterea HDL (mecanism incomplet cunoscut).

În unele cazuri, după un puseu acut de alcoolism, plasma poate deveni lactescentă, iar această hipertrigliceridemie severă este însoţită de creşteri ale fosfolipidelor şi ale colesterolului liber.

O bună parte din bolnavii cu pancreatită acută sunt consumatori cronici de alcool şi grăsimi. Manifestările pancreatice sunt asociate cu hipertrigliceridemie. Oprirea consumului de alcool şi de grăsimi conduce la o scădere spectaculoasă a trigliceridelor şi la normalizarea spectrului lipoproteinelor serice. În cazul în care trigliceridele nu revin la normal, se poate bănui că o hiperlipoproteinemie cu caracter primar a preexistat episodului de pancreatită declanşat de consumul de alcool.

Hiperlipemia din colestază

În cazul obstrucţiei căilor biliare, se remarcă creşteri ale colesterolului liber şi ale fosfolipidelor. La electroforeză, apare o fuzionare a benzilor pre-β şi β, iar compoziţia devine patologică. În icterul obstructiv, β –lipoproteinele cresc şi apare un LDL anormal, caracterizat printr-o proporţie crescută în colesterol liber şi fosfolipide, dar cvasi-lipsit de trigliceride şi colesterol esterificat. Un astfel de complex a fost descris pentru prima oară de Switzer şi analizat în detaliu de Seidel, care de altfel l-a şi denumit lipoproteina X (LP-X). La electroforeza în gel de agaroză, complexul migrează înapoia β –lipoproteinelor de care se diferenţiază cu greu. În schimb la electroforeza în gel de agar, LP-X este singura lipoproteină care migrează spre polul negativ. LP-X este prezentă în toate formele de colestază. A fost sugerat faptul că LP-X este mai crescută în colestazele extrahepatice faţă de cele intrahepatice. În ultima stare patologică, se constată apariţia unei lipoproteine cu migrare α încetinită.

Valoarea diagnostică a lipidelor şi lipoproteinelor în procesele colestatice este redusă în comparaţie cu modificările specifice referitoare la creşterea acizilor biliari, ale fosfatazei alcaline şi γ-glutamiltransferazei.

Hiperlipemia prin consumul de medicamente

Numeroase medicamente pot, de asemenea, provoca sau crește o hiperlipidemie, motiv pentru care le vom prezenta doar pe cele frecvent folosite în practica clinică.

Diureticele tiazidice pot determina creșteri ale trigliceridelor plasmatice. Beta-blocantele, în special cele neselective, cresc trigliceridele și determină reduceri ale HDL colesterolului. β-blocantele cu activitate simpatomimetică intrinsecă sau α-blocantele ar trebui utilizate pentru tratamentul hipertensiunii la pacienții cu hiperlipidemii. Estrogenii pot crește semnificativ HDL-colesterolul plasmatic, iar uneori pot determina și hipertrigliceridemie. Și anumiți progestativi, utilizați în contracepția orală, prezintă efecte secundare asupra lipidelor plasmatice. Alături de medicamentele de mai sus merită menționate și neurolepticele care favorizează apariția sindromului metabolic.

Hiperlipemia indusă de factorii nutriționali și stilul de viață

În practica clinică, multe dislipidemii, altele decât formele genetice pure, prezintă o componentă de mediu notabilă. Factorii ce contribuie la apariția obezității (dieta hipercalorică, bogată în grăsimi saturate, zaharuri rafinate, sedentarismul) sunt determinanți importanți ai nivelelor lipidice și lipoproteice plasmatice în populație. Se consideră că modificările aduse stilului de viață (dieta, exercițiul fizic, reducerea obezității abdominale) reprezintă cheia tratamentului în majoritatea dislipidemiilor. Cu toate acestea, aplicabilitatea practică a acestor indicații este dificilă și de cele mai multe ori cu ele nu se obțin decât reduceri modeste ale lipidelor plasmatice.

În rezumat, în cazul unui pacient dislipidemic, excluderea uneia sau mai multor cauze secundare este esențială. Anamneza și examenul clinic se vor asocia unui bilanț biologic minim: glicemie, creatininemie, TSH plasmatic, eventual testarea toleranței la glucoză. Cercetarea proteinuriei se va indica în funcție de contextul clinic.

Tratamentul unei dislipidemii secundare are ca principal obiectiv înlăturarea/ameliorarea factorului cauzator cu tratamentul bolii de bază. Dacă cele de mai sus nu sunt posibile sau dacă pacientul prezintă un risc înalt pentru complicații, atunci introducerea terapiei hipolipemiante constituie un mijloc terapeutic indispensabil.

Dieta, efortul fizic, modificarea stilului de viață constituie aparent mijloace facile în managementul dislipidemiilor, dar de cele mai multe ori atât pacientul cât și medicul le teoretizează beneficiile fără a avea răbdarea necesară așteptării lor, fără a le monitoriza eficiența.

Hiperlipidemiile primare

Atunci când poate fi exclus caracterul secundar şi când rudele subiectului prezintă şi ele anomalii ale lipidelor serice, se poate afirma existenţa unei dereglări cu caracter primar.

Deşi astfel de anomalii sunt cauzate de mutaţii care afectează receptorii celulari, apoproteinele sau enzimele implicate în metabolismul lipoproteinelor, factorii genetici nu pot explica în totalitate aspectele clinice şi de laborator, iar în multe cazuri, factorii de mediu contribuie şi ei la dezvoltarea acestor aspecte.

În fapt, un anumit tip de hiperlipoproteinemie prezentând aspecte caracteristice ale lipidelor şi lipoproteinelor serice poate fi produs prin mecanisme diferite, tot aşa cum una şi aceeaşi boală de bază poate da aspecte lipoproteice diferite.

Hipercolesterolemia familială

Această afecţiune se caracterizează printr-o colesterolemie crescută, prezentă din copilărie, fiind independentă de factorii de mediu. Corespunde dislipidemiei de tip IIa în varianta creşterii izolate a colesterolului total.

Transmiterea sa este autozomală dominantă, cu o prevalenţă în Franţa sau Anglia de ordinul 1/500.

Diferite mutaţii pot afecta sinteza de LDL, transportul, legarea de ligand ş.a. toate însă exprimând un fenotip similar. Deficitul familial în apo B-100, în care o mutaţie a genei apo B diminuă afinitatea LDL pentru receptorul său, determină de asemenea, un fenotip asemănător. În toate cazurile, se întâlneşte un deficit al captării şi al catabolismului LDL, iar concentraţia lor plasmatică creşte.

La heterozigoţi, colesterolemia totală se situează clasic, în intervalul 7,5-12 mmol/l. Diagnosticul se sprijină pe evidenţierea la pacient, a unei hipercolesterolemii (> 7,5 mmol/l la adult [colesterol LDL > 4,5 mmol/l]).

Subiecţii heterozigoţi dezvoltă această patologie, în medie cu 20 de ani, înaintea populaţiei generale. Sub aspect clinic, copii sunt asimptomatici (rar apar xantoame tendinoase în primii 10 ani de viaţă); în decada a doua sau a treia de viaţă, la 10- 15 % din copii apar xantoame situate la nivelul tendonului lui Ahile sau tendonului extensor al mâinii. Adulţii manifestă boală coronariană precoce, episoade de angină pectorală după vârsta de 30 de ani şi infarct miocardic acut într-un procent de 50 % până la vârsta de 60 de ani.

La homozigoţi, această afecţiune este mai rară (1/1.000.000) iar receptorii sunt absenţi. Colesterolemia este excesivă, putând atinge valori crescute de 20 mmol/l. Xantoamele apar de la naştere sau din mică copilărie, se asociază cu depozite lipidice la nivel retinian şi la nivel valvular aortic. Aceşti pacienţi prezintă o patologie coronariană încă din copilărie, iar în absenţa tratamentului, ating rar vârsta adultă.

Hipercolesterolemia „comună" sau poligenică

În hipercolesterolemia familială, distribuţia valorilor hipercolesterolemiei la rudele pacientului este bimodală, cu o diferenţă netă între indivizii heterozigoţi şi cei normali. Atunci când sunt studiate familiile unui subiect hipercolesterolemic se observă frecvent o distribuţie continuă, care sugerează că numeroase gene influenţează concentraţia plasmatică în colesterol. Această formă a fost numită hipercolesterolemie „comună" sau poligenică. În această afecţiune, hipercolesterolemia nu este atât de crescută ca cea din hipercolesterolemia familială, însă este foarte mult influenţată de factorii de mediu (de exemplu, de alimentaţie).

Această patologie este în egală măsură asociată riscului cardiovascular, iar principiile monitorizării sale sunt similare celor din hipercolesterolemia familială.

În hipercolesterolemia poligenică, controlul dietei conduce uneori la stabilirea unei colesterolemii în valori acceptabile.

Disbetalipoproteinemiile familiale

Pe plan biochimic, caracteristica acestor afecţiuni este prezenţa în exces a IDL şi a chilomicronilor remanenţi. Sunt adesea prezenţi şi chilomicronii. Colesterolemia totală şi trigliceridemia sunt crescute, în general în aceeaşi proporţie. La electroforeza lipoproteinelor din ser se observă o bandă beta lată, deoarece particulele reziduale antrenează formarea unei bande continue între fracţiunea pre-β (corespunzătoare VLDL) şi fracţiunea β (LDL).

Această patologie se caracterizează pe plan clinic prin prezenţa depozitelor lipidice la nivelul pliurilor palmare şi printr-o xantomatoză tuberoasă., ce survine la nivelul protuberanţei osoase. Semnele clinice nu sunt sistematice. Pacienţii cu această dislipidemie prezintă o creştere a riscului cardiovascular şi a celui pentru afecţiunile cerebrale şi periferice.

Există un polimorfism apo E. Fenotipul cel mai comun este E-3/E-3. Disbetalipoproteinemia familială este asociată fenotipului E-2/E-2, care determină un defect de captare a IDL de către ficat. Faptul că regăsim acest fenotip la 1/100 din populaţia normală, în timp ce disbetalipoproteinemia este o anomalie rară (prevalenţa 1/10.000), presupune şi influenţa altor factori, şi din nefericire, deşi varianta de apoproteină este prezentă

încă de la naştere, patologia nu se exprimă clinic înaintea vârstei adulte. Aceşti factori sunt obezitatea, alcoolismul, hipotiroidia şi diabetul.

Cu toate că diagnosticul este puternic sugerat de aspectele clinice şi de bilanţul biochimic, ideal pentru confirmarea lui ar fi genotiparea apo E.

Interesul polimorfismului apo E nu se limitează doar la metabolismul lipidic. Astfel, o creştere a frecvenţei alelei E4 este regăsită la pacienţii cu maladie Alzheimer familială.

Hiperchilomicronemia familială

Prezenţa chilomicronilor à jeun este regăsită în două hiperlipidemii rare, cu transmitere autozomală recesivă. În unul din cazuri se observă un deficit de lipoprotein lipază, iar în celălalt un deficit de apo C-II, necesară pentru activarea acestei enzime. În ambele cazuri rezultă o creştere marcată şi persistentă a concentraţiei chilomicronilor şi a trigliceridelor. Patologia se declanşează din copilărie, cu xantoame (depuneri de trigliceride în ţesuturi) eruptive, dureri abdominale recurente legate de accese de pancreatită, şi uneori hepatosplenomegalie.

Hiperchilomicronemia este întâlnită şi la pacienţii care prezintă o predispoziţie genetică pentru hipertrigliceridemie, mai ales atunci când aceasta este exacerbată prin obezitate, diabet zaharat, hiperuricemie sau alcoolism. Un efect similar îl au şi medicamentele tiazidice.

Complicaţia principală a hiperchilomicronemiei este apariţia recurentă a pancreatitelor şi, în măsura în care acestea sunt rare la concentraţii mai mici de 10 mmol/l, se consideră uneori că nu este necesară obţinerea unei normalizări stricte a concentraţiei chilomicronilor.

Hipertrigliceridemia familială

Această afecţiune, care are o prevalenţă de 1/600, este asociată cu un exces de VLDL plasmatic, bazele moleculare nefiind încă bine cunoscute. Are loc o creştere a sintezei hepatice de VLDL. Transmiterea acestei maladii este autozomală dominantă. Concentraţiile în trigliceride nu depăşesc în general 5 mmol/l dar, în cazurile severe, în care sunt implicaţi şi alţi factori (de exemplu obezitatea şi alcoolismul), acestea sunt mult crescute.

Poate fi asociată şi o hiperchilomicronemie, şi în acest caz apare şi o expresie clinică a acesteia, cum ar fi de exemplu xantoamele eruptive şi lipemia retiniană.

Nu există o legătură certă între hipertrigliceridemia familială şi creşterea riscului cardiovascular, chiar dacă concentraţia în HDL este adesea diminuată. În cazurile severe apare riscul de pancreatită.

Hipertrigliceridemia familială severă

Nu se cunoaşte defectul metabolic al bolii, însă ea se caracterizează prin trigliceridemie crescută, atât pe seama chilomicronilor (ce transportă lipidele exogene), cât şi pe seama VLDL (care transportă lipidele endogene). De obicei, este evidentă clinic la vârsta de adult, prezentându-se cu xantoame eruptive, hepatosplenomegalie şi dureri abdominale. Subiecţii pot prezenta episoade recurente de pancreatită acută severă. Riscul este crescut pentru boli vasculare aterosclerotice.

Hiperlipidemia combinată familială

Hiperlipidemia combinată familială este consecinţa unei supraproducţii hepatice de apo B, care conduce la creşterea secreţiei de VLDL şi la transformarea VLDL în LDL. Colesterolul şi/sau trigliceridele plasmatice pot fi crescute. Printre părinţii afectaţi, 1/3 prezintă o creştere a LDL, 1/3 o creştere a VLDL, iar 1/3 ambele tipuri de lipoproteine în exces. Pot fi prezente şi semne cutanate de hiperlipidemie, în toate cazurile existând o creştere a riscului cardiovascular. Fenotipul acestei afecţiuni corespunde dislipidemiilor tip IIa, IV sau IIb.

Prevalenţa acestei afecţiuni este de 1/200, iar transmiterea se realizează probabil autozomal dominant. Nu se observă semne clinice evidente, diagnosticul fiind prezumtiv, stabilit pe baza creşterii colesterolului şi a trigliceridelor, în absenţa xantoamelor tendinoase sau a unei etiologii secundare de hiperlipidemie.

Hiperalfalipoproteinemia familială

În acest caz, hipercolesterolemia este datorată doar creşterii fracţiunii HDL, care se regăseşte şi la alţi membrii ai familiei. Riscul cardiovascular este diminuat, nefiind necesar tratamentul.

Această situaţie particulară arată importanţa determinării colesterolului HDL la pacienţii hipercolesterolemici. În general, dacă colesterolul depăşeşte 7 mmol/l, şi fracţiunea LDL este crescută. Determinarea HDL ajută la supravegherea riscului cardiovascular.

Hipolipoproteinemiile familiale

În cadrul hipolipoproteinemiilor se întâlnesc trei deficite ereditare.

Abetalipoproteinemia

În abetalipoproteinemie, există un deficit de sinteză de apo B din chilomicroni şi VLDL. Tabloul lipidic sanguin este modificat în sensul unei hipolipidemii totale, fiind reduse trigliceridele, colesterolul şi fosfolipidele. Sunt absente în plasmă VLDL şi LDL.

Deficitul enzimatic la nivel intestinal are ca rezultat imposibilitatea formării chilomicronilor, a absorbţiei intestinale a trigliceridelor şi a altor lipide exogene. Tabloul clinic prezintă, pe lângă manifestările digestive, şi tulburări neurologice, oftalmologice, hematologice, determinate în cele din urmă de deficienţa organismului în lipide.

Hipobetalipoproteinemia

În hipobetalipoproteinemie apare un deficit parţial de apo B, în timp ce chilomicronii, VLDL şi LDL sunt prezenţi, dar în concentraţii slabe.

Maladia Tangier

Caracteristica maladiei Tangier este diminuarea nivelului de HDL. Nivelul anormal de scăzut al HDL-colesterolului reprezintă cea mai frecventă anomalie lipidică şi ar putea fi originea a aproape jumătate din cazurile de coronaropatii ischemice. Pentru a stabili originea acestei anomalii, mai multe echipe au cercetat prezenţa mutaţiilor la nivelul genei ABC1 (*gena ATP-binding-cassette transporter 1*), gena care aparţine superfamiliei de gene ABC, ce codifică proteine de transport transmembranare.

Gena ABC1 codifică în mod specific proteina CERP (*Cholesterol-Efflux Regulatory Protein*, Proteina Reglatoare a Efluxului de Colesterol), care joacă un rol cheie în efluxul colesterolului: CERP este esenţială pentru "transportul invers" al colesterolului, ce constă în colectarea acestuia din celulele periferice şi aducerea lui în ficat şi în organele cu rol în metabolizarea sterolilor.

Un prim studiu (Young and Fielding, 1999) a stabilit că maladia Tangier, formă rară dar gravă, ce corespunde unei absenţe aproape complete a apo-A1, este consecinţa mutaţiilor la nivelul genei ABC1. Un al doilea studiu (Marcil et al., 1999), condus asupra a 5 familii, a arătat că mutaţiile genei ABC1 ar sta şi la originea formelor familiale de hipocolesterolemie HDL, mai frecvent întâlnite.

Aceste descoperiri sunt promiţătoare în ceea ce priveşte punerea la punct a unor tratamente vizând amplificarea expresiei genei ABC1 sau a activităţii CERP, cu scopul de a obţine o creştere a nivelului colesterolului HDL cu rol ateroprotector.

Clinic, această afecţiune este caracterizată prin prezenţa amigdalelor hipertrofice, de culoare orange, şi prin acumularea esterilor de colesterol în alte ţesuturi reticulo-endoteliale. Este vorba de un catabolism accelerat al apo A-I.

Hiperlipoproteinemia ca factor de risc cardiovascular

Infarctul de miocard

Clinic, infarctul de miocard se caracterizează printr-o durere toracică acută care iradiază adesea în braţ sau maxilar, asociată adesea cu modificări de EKG.

Determinarea enzimelor plasmatice este utilizată de foarte mult timp în diagnosticul infarctului de miocard. Prima enzimă care creşte în infarctul de miocard este izoenzima MB a creatin-kinazei (CK-MB) urmată de creatinkinaza totală, asparatat-aminotransferaza şi hidroxibutirat dehidrogenaza (izoenzima cardiacă a lactat dehidrogenazei). CK-MB a fost mult timp considerată un parametru de referinţă. Muşchiul cardiac prezintă 30 % din activitatea CK sub formă CK-MB. Această proporţie este de aproximativ 1 % în muşchiul striat scheletic sănătos. Astfel, chiar dacă CK totală este crescută (de exemplu ca urmare a unui traumatism sau a unui exerciţiu muscular intens), prezenţa într-o proporţie mai mare de 5% din activitatea totală sub formă CK-MB sugerează o leziune a muşchiului cardiac.

La pacienţii, cu modificări clinice EKG caracteristice, bilanţul enzimatic nu contribuie esenţial. Când diagnosticul nu este evident, valorile crescute de CK-MB sau doar creşterea CK-MB peste 15 % pe o perioadă de 4 ore, sugerează un infarct de miocard. Dacă activitatea CK nu creşte la un bolnav cu durere toracică, atunci infarctul de miocard este puţin probabil. Persistenţa unei activităţi CK crescute sugerează o extindere a leziunilor.

Determinarea activităţii aspartataminotransferazei şi hidroxibutirat dehidrogenazei prezintă rareori un interes practic pentru îngrijirea pacienţilor suspecţi de infarct de miocard.

În mod excepţional, atunci când un pacient cu durere toracică este consultat tardiv, determinarea hidroxibutirat dehidrogenazei poate fi utilă, deoarece această enzimă rămâne la valori mari mai multe zile după un infarct de miocard. Troponinele plasmatice rămân în egală măsură mărite până la o săptămână după infarctul de miocard.

Lipsa de specificitate şi de sensibilitate a determinărilor de CK-MB, în special în primele ore care urmează de la debutul simptomelor, a determinat interesul pentru găsirea altor markeri potenţiali, cum sunt mioglobina şi troponinele. Troponina I şi troponina T sunt proteinele sistemului contractil al celulelor musculare, fiind sensibile şi specifice în contextul unui infarct de miocard. Principalul lor rol este acela de a exclude o leziune cardiacă la pacienţii cu durere toracică, în sensul în care, infarctul de miocard este puţin probabil atunci când nu sunt creşteri ale troponinelor. Mioglobina este un marker cardiac sensibil şi precoce (poate creşte înaintea CK-MB), dar nespecific, deoarece în egală măsură este prezentă în muşchiul striat scheletic.

La pacienţii care au suferit deja un infarct de miocard, supravegherea analizelor biochimice este importantă. Determinarea potasiului şi a glucozei plasmatice cât şi a „gazelor sângelui" arterial este determinantă pentru monitorizarea afecţiunii. Bilanţul lipidic trebuie efectuat imediat sau după cel mult 3 luni.

Hipertensiunea arterială

Hipertensiunea constituie o afecţiune foarte frecventă care afectează aproximativ 15 % din populaţie. Cu toate că adesea este asimptomatică, hipertensiunea reprezintă o cauză importantă de morbiditate şi de mortalitate, în special în contextul accidentelor vasculare cerebrale sau a patologiei cardiovasculare. Pentru aproximativ 95 % din pacienţi nu există o etiologie specifică. De aceea, se utilizează în acest caz termenul de „hipertensiune esenţială". Patogeneza acesteia nu este clară, cu toate că în 70 % din cazuri, cel puţin un alt membru al familiei este hipertensiv. Au fost semnalate numeroase etiologii ereditare de hipertensiune.

Biochimia clinică nu are rol în diagnosticul hipertensiunii esenţiale, fiind importantă doar pentru evaluarea efectelor secundare terapeutice (de exemplu hipokaliemia indusă de anumite diuretice) şi depistarea complicaţiilor hipertensiunii (în special alterarea funcţiei renale). Ea este importantă de asemenea în diagnosticul anumitor forme de hipertensiune secundară, în special de origine renală sau endocrină.

La toţi pacienţii se pot propune examene biochimice simple (Tabel IV.6), fie pentru diagnosticul unei etiologii specifice, fie într-un context mai general, de evaluare a riscului cardiovascular.

Tabel IV.6. Explorările biochimice la pacienții hipertensivi

Explorări	Explicații
Analiza urinară	pentru proteine (patologii renale) şi glucoza (diabet-factor de risc cardiovascular)
Creatinina plasmatică	patologii renale
K^+ plasmatic	exces de mineralocorticoizi (primar sau secundar)
Ca^{2+} plasmatic	hiperparatiroidie
Colesterol şi trigliceride plasmatice	evaluarea riscului cardiovascular
Renina şi aldosteron plasmatice	Sindrom Cohn (cauză de hipertensiune secundară)
Metaboliții urinari ai catecolaminelor	Feocromocitom (cauză de hipertensiune secundară)

Accidentul vascular cerebral

Un accident vascular cerebral apare atunci când un vas de sânge (o artera) care furnizează sânge la nivelul unei zone a creierului se sparge sau este blocat de un cheag sanguin. In câteva minute, celulele nervoase din acea zonă sunt afectate şi ele pot muri în câteva ore. Ca rezultat, acea parte a corpului care este controlată de zona afectată a creierului nu mai poate funcționa adecvat.

În cazul în care apar simptome ale unui AVC este necesar un tratament de urgență, exact ca şi în cazurile de infarct miocardic. In cazul în care tratamentul medical este început cât mai curând după apariția simptomelor, cu atât mai puține celule nervoase vor fi afectate permanent.

Factorii de risc care pot fi controlați sunt:

- tensiunea arterială crescută (hipertensiunea) este al doilea factor de risc ca importanță după vârstă;

- diabetul zaharat. Aproximativ un sfert din persoanele cu diabet decedează prin AVC. Prezența diabetului creşte de 2 ori riscul de accident vascular cerebral din cauza afectării circulației care apare în această boală;

- **nivelul crescut de colesterol din sânge** poate duce la afecțiuni ale arterelor coronare şi la infarct miocardic, care la rândul lor determina lezarea musculaturii inimii (miocardului),

iar aceasta la rândul ei poate determina creşterea riscului de accident vascular; Un nivel crescut de colesterol-LDL dublează riscul de a suferi un accident vascular cerebral, comparativ cu femeile cu nivele scăzute.

- afecţiuni ale arterelor coronare, care pot determina apariţia unui infarct miocardic şi a unui accident vascular cerebral;

- alte afecţiuni ale inimii, precum fibrilaţia atrială, endocardita, afecţiuni ale valvelor cardiace, foramen ovale patent sau cardiomiopatie;
- fumatul, inclusiv fumatul pasiv;
- lipsa activităţii fizice;
- obezitatea;
- folosirea unor medicamente, cum sunt anticoncepţionalele orale – în special la femeile care fumează sau care au avut până în prezent tulburări de coagulare – şi anticoagulantele sau corticosteroizii.
- folosirea de cocaina sau de alte droguri ilegale;

CAPITOLUL V. PROTEINELE ŞI ENZIMELE PLASMATICE

INTRODUCERE

Proteinele sunt prezente în toate lichidele organismului. Cu toate acestea, proteinele plasmatice sunt explorate cel mai des în scopul stabilirii unui diagnostic.

Proteinele plasmatice se găsesc în plasmă într-o concentraţie de 60-80 g/l. Ele se află într-un schimb metabolic continuu cu proteinele tisulare. De asemenea, proteinele plasmatice sunt prezente în spaţiul extravascular într-o concentraţie de 1g/100 ml, fiind în echilibru dinamic cu cele intravasculare.

Cu excepţia imunoglobulinelor de origine plasmocitară, marea majoritate a acestor proteine sunt sintetizate în ficat. Informaţia genetică pentru biosinteza lor, ca de altfel pentru toate proteinele, este conţinută în ADN-ul din nucleul celulelor formatoare, ce codifică fiecare aminoacid prin tripletul corespunzător lui.

Proteinele plasmatice au masa moleculară cuprinsă între 60.000 -1.300.000 Da, iar din punct de vedere structural, aparţin holoproteinelor, glicoproteinelor (aproximativ 80 % din cantitatea totală), lipoproteinelor, metaloproteinelor etc.

Principalele funcţii ale proteinelor plasmatice sunt următoarele:

1. menţin presiunea oncotică sanguină (albumina este principala proteină răspunzătoare), contribuind la schimburile dintre capilare şi ţesuturi;
2. formează o parte importantă a sistemelor tampon sanguine, având rol în menţinerea pH-ului sanguin;
3. furnizează diferiţi factori cu rol în coagularea sângelui (fibrinogen, protrombina şi antitrombina III) şi fibrinoliză;
4. transportă nespecific substanţe fiziologice cum ar fi fierul (transferina), hemoglobina (haptoglobina), trigliceride, colesterol, fosfolipide (lipoproteinele), sau medicamente (albumina) ş.a.;
5. asigură imunitatea umorală (imunoglobulinele, citokinele şi proteinele sistemului complement);
6. inhibă alte proteine plasmatice şi tisulare (α_1-antitripsina, antitrombina III, α_2-macroglobulina);
7. constituie o rezervă de proteine în procesele de creştere şi reparare a ţesuturilor;

Anumite proteine plasmatice sunt enzime, cum ar fi de exemplu renina şi factorii coagulării. În afara acestora, numeroase enzime iniţial intracelulare pot fi detectate în plasmă dovedind astfel eliberarea lor de către celule în cursul ciclului celular normal. Determinarea acestor enzime furnizează markeri sensibili (din nefericire, adesea nespecifici) ai unor distrugeri tisulare.

EXPLORAREA PROTEINELOR PLASMATICE

Pe plan cantitativ, proteina cea mai importantă este albumina. Cu excepţia fibrinogenului, celelalte proteine sunt denumite colectiv sub numele de globuline. Schimbările concentraţiei uneia din aceste proteine survin în numeroase afecţiuni, şi în consecinţă, dozarea lor poate aduce informaţii diagnostice utile.

Proteinele totale plasmatice

În general, variaţiile concentraţiei proteinelor plasmatice sunt de 3 tipuri: variaţii ale nivelului de sinteză, variaţii ale catabolismului şi variaţii ale volumului de distribuţie.

Concentraţia proteinelor plasmatice este afectată de postură: o creştere a concentraţiei de aproximativ 10- 20 % survine în primele 30 de minute ca urmare a ridicării în picioare, după o perioadă de repaus în poziţia alungit. Dacă se aplică un garou înainte de puncţia venoasă, în câteva minute se produce o creştere a concentraţiei proteinelor. În cele două cazuri, variaţia concentraţiei este provocată de creşterea difuziei lichidului din compartimentul vascular spre cel interstiţial.

Numai variaţiile celor mai abundente proteine plasmatice (albumina sau imunoglobulinele) au un efect semnificativ asupra concentraţiei totale.

Concentraţia plasmatică proteică variază în funcţie de starea de hidratare a compartimentului intracelular.

O creştere rapidă a proteinemiei totale (cu excepţia cazurilor de administrare intravenoasă de sânge sau de proteine), sau o hiperproteinemie (cu valori peste 120 g/l), este întotdeauna datorată scăderii volumului de distribuţie (în practică, stării de deshidratare sau hemoconcentrare) şi mai ales hipergamaglobulinemiilor (de exemplu în mielom).

O diminuare rapidă este adeseori consecinţa creşterii volumului plasmatic (în practică, a stării de hiperhidratare sau hemodiluţie).

Din acest motiv, variațiile concentrației proteinelor plasmatice sunt importante pentru evaluarea stării de hidratare a pacienților.

Proteinemia totală poate de asemenea să diminueze rapid dacă permeabilitatea capilară crește, în măsura în care proteinele difuzează spre spațiul interstițial. Se poate întâlni această situație, de exemplu în septicemii sau în sindroamele inflamatorii generalizate.

Hipoproteinemiile (în care concentrația proteinelor scade până la 15 g/l) pot fi datorate fie unei carențe de proteine, fie unui defect de sinteză în timpul unei insuficiențe hepatice severe, fie unei pierderi anormale de proteine la nivel cutanat, tisular sau renal. În ultimul caz, hipoproteinemia implică o proteinurie renală masivă. Pierderile proteinelor plasmatice la nivelul tubului digestiv sunt cazuri rare.

Modificările proteinemiei pot fi observate în tabelul V.1.

Tabelul V.1. Cauzele variațiilor proteinemiei

Creștere	**Cauzele creșterii**	**Diminuare**	**Cauzele diminuării**
Hipergama-globulinemie **Paraproteinemie**	↑ Sinteza proteică	Malnutriție și malabsorbție Patologii hepatice Deficit de imunitate umorală	↓ sinteza proteică
Artefacte	Hemoconcentrare datorată stazei venoase în cursul prelevării	Hiperhidratare Creșterea permeabilității capilare	↑ volumul de distribuție
		Pierderi de proteine Stări de hipercatabolism	↑ excreția / catabolismul
Deshidratare	↓ volumului de distribuție		

Valori normale uzuale ale concentrației proteinelor totale:

Nou-născut : 4,6-7,4 g %

1 lună-1 an : 5,1- 7,3 g %

1 - 2 ani : 5,6-7,5 g %

copil-adult și adult : 6- 8 g %

Variații biologice:

Valorile proteinelor totale la nou-născuților sunt cu 20 % mai mici comparativ cu cele ale adulților. Acest procent crește progresiv în cursul copilăriei și adolescenței până la vârsta de 16-18 ani, ca apoi să rămână relativ stabil la vârsta adultă. O diminuare ușoară a concentrației proteinelor totale este remarcată la persoanele în vârstă.

În timpul sarcinii, efectul conjugat al creşterii volumului sanguin şi al modificării stării hormonale produce o scădere a proteinemiei cu 10 %.

Exercițiile fizice prelungite antrenează o creştere cu 10 % a proteinemiei.

Variații patologice:

Scăderea proteinelor totale apare în caz de : arsuri, hemoragii, stări de şoc, denutriție severă, hepatite, alcoolism cronic, enteropatii, sindrom nefrotic, glomerulonefrite, neoplazii.

Creşterea proteinelor totale apare în: mielom, lupus eritematos diseminat, boli de colagen, reumatism articular acut, deshidratare, diabet insipid şi hipertensiune arterială.

Electroforeza proteinelor

În trecut, această tehnică era larg utilizată în scopul studiului semi-cantitaiv al proteinelor plasmatice. În prezent, odată cu dezvoltarea metodelor de dozaj specific pentru toate proteinele importante din punct de vedere clinic, electroforeza proteinelor rămâne utilă în detecția paraproteinelor (proteine monoclonale produse de clone de limfocite B, în special în mielom). Electroforeza este realizată mai degrabă pe ser decât pe plasmă, deoarece fibrinogenul produce o bandă în regiunea β_2, care poate fi confundată cu o paraproteină.

Electroforeza, pe suport de acetat de celuloză sau pe gel de agaroză, separă proteinele în bande distincte şi anume: albumina, α_1-globulinele, α_2-globulinele, β-globulinele şi γ-globulinele (Figura V.1).

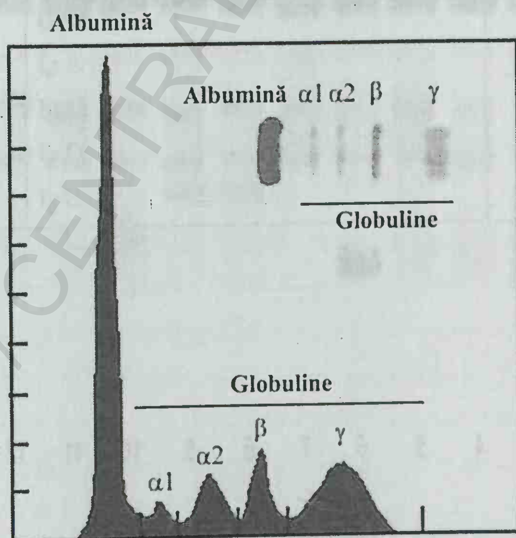


Figura V.1. Fracțiunile obținute prin electroforeza proteinelor serice

În figura V.2 este prezentat un exemplu de gel de electroforeză în care au fost migrate diferite proteine serice.

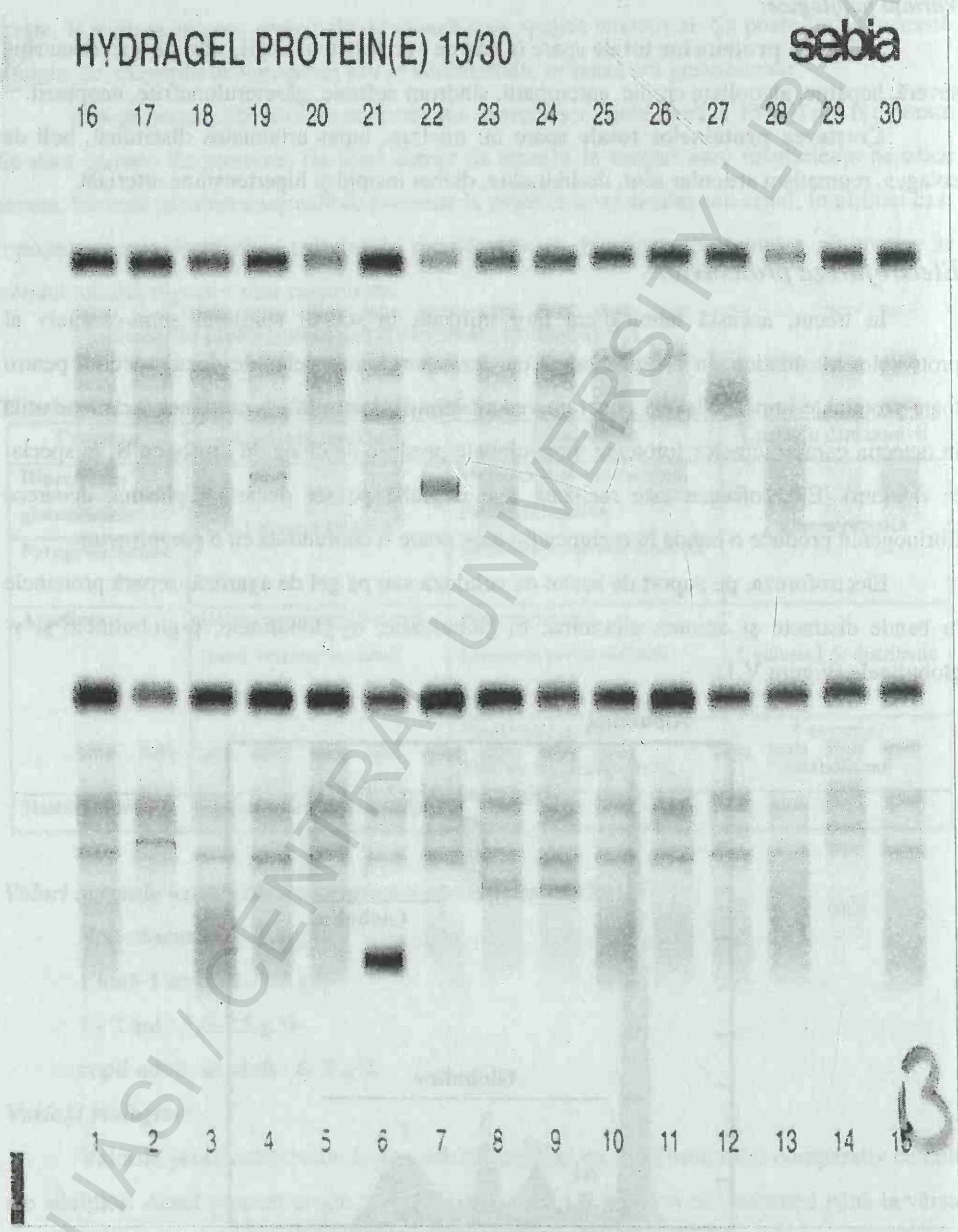


Figura V.2. Placă de electroforeză de proteine serice

Proteinele plasmatice sunt încă clasificate în diferite grupe în funcție de mobilitatea lor electroforetică (Tabelul V.2), dar în această clasificare nu există o corelație legată de funcția lor, cu excepția imunoglobulinelor normale care migrează în poziția γ, fiind numite adesea și γ-globuline.

Tabelul V.2. Principalele proteine plasmatice

Fracții obținute prin electroforeză	Proteine	Concentrația serică aproximativă (g/l)
	Prealbumina	0,2-0,4
	Albumina	40-45
α_1-globuline 1,1-3,7%; 0,8-2,6 g/l	α_1-antitripsina α_1-glicoproteina acidă	0,8-2,0 0,5-1,3
α_2-globuline 8,5-15 %; 6,0-10 g/l	Haptoglobina α_2-macroglobulina Ceruloplasmina	0,3-2,0 1,5-3,5 0,2-0,6
β-globuline 8,6-15 %; 6,0-10 g/l	Transferina Proteina C reactivă Lipoproteinele cu densitate mică Factorii complementului (C3)	2,0-3,8 < 3,0 mg/l 1,0 1,0
γ-globuline 9,2-18 %; 6,4-13 g/l	Ig G Ig A Ig M Ig D Ig E	8,0-16,0 2,0-4,0 0,5-2,0 0,05-0,4 0,1-1,0

PROTEINE PLASMATICE SPECIFICE

Albumina

Este proteina serică cu cea mai mare concentrație, respectiv 3-5 g/100 ml de ser, reprezentând procentual 55-60 % din totalul proteinelor plasmatice. Albumina este o holoproteină cu masa moleculară de 66 kDa, fiind alcătuită dintr-un singur lanț polipeptidic cu peste 580 resturi de aminoacizi. Are un pH izoelectric foarte scăzut (pHi = 4,7), ceea ce explică migrarea sa rapidă la electroforeză. Albumina are o structură globulară care este menținută de 17 legături disulfurice, ceea ce conduce la o formă elipsoidală a moleculei. Datorită prezenței unei grupări tiol liberă (-SH) albumina poate forma complexe cu diferite metale ca Hg, Zn, Ag, Cu. De-a lungul structurii peptidice se repetă secvențe hidrofile şi hidrofobe, la nivelul cărora moleculele de albumină pot fixa diferite substanțe ca: apă, ioni, acizi graşi liberi neesterificați, bilirubină, glucoză, hormoni tiroidieni, vitamina C, coloranți, medicamente etc., îndeplinind astfel funcția de transport. Capacitatea de fixare a albuminei este competitivă şi saturabilă. Astfel, în cazul unui icter neonatal, bilirubina fixată anterior poate fi eliberată de pe suprafața albuminei de către unele antibiotice administrate în scop terapeutic la sugar, fixându-se cu o afinitate mult mai mare pe aceleaşi situsuri.

Albumina este produsă de hepatocite cu o viteză de sinteză mult mai mare comparativ cu cea a altor proteine, fiind eliberată în circulație după 30 de minute de la debutul sintezei. Timpul de înjumătățire al albuminei este de 15-20 zile. Deşi producția hepatică zilnică de albumină este relativ constantă de 10-20 g/l sau chiar mai mult, un ficat normal are depozite de albumină mai mici de 1 g. Hormonii tiroidieni şi testosteronul induc sinteza hepatică de albumină.

Albumina este prezentă în toate lichidele biologice şi în spațiul intercelular. Este catabolizată în special la nivelul tractului gastro-intestinal, sub acțiunea proteazelor din sucurile digestive. În proporție de 10-15 % este degradată şi intrahepatic. Albumina nu este filtrată de rinichi iar în patologie se manifestă o albuminurie.

Albumina este proteina cea mai abundentă din plasmă care contribuie într-o proporție de 85 % la asigurarea presiunii oncotice a plasmei, menținând apa în sectorul intravascular (în sânge). Presiunea oncotică reprezintă presiunea osmotică datorată prezenței proteinelor. (Presiunea oncotică = C / M, unde C: concentrația şi M: masa moleculară).

Presiunea oncotică dezvoltată de albumina serică este neglijabilă în raport cu cea dezvoltată de electroliţi, însă cu toate acestea albumina contribuie esenţial în controlul schimburilor de apă între sectorul vascular şi cel interstiţial.

În hipoalbuminemii, diminuarea presiunii oncotice plasmatice perturbă echilibrul lichidian dintre plasmă şi spaţiul interstiţial, în aşa fel încât este diminuat returul lichidului interstiţial spre sânge la nivelul extremităţii venoase a capilarelor. Acumularea de lichid interstiţial este un semn clinic caracteristic numit edem. Diminuarea relativă a volumului plasmatic antrenează o scădere a fluxului sanguin renal. Acesta stimulează secreţia de renină şi de aldosteron prin formarea angiotensinei (hiperaldosteroism secundar). Apare o retenţie de sodiu şi deci o creştere a volumului de lichid extracelular, care agravează edemul.

Hipoalbuminemia are multiple semnificaţii, putând fi asociată unor procese patologice variate.

Cauzele producerii hipoalbuminemiei pot fi:

- **Diminuarea sintezei**
  - Malnutriţia cu scăderea marcată a aportului în aminoacizi esenţiali;
  - Malabsorbţia;
  - Afecţiuni hepatice: hepatita acută gravă, ciroza hepatică decompensată.
- **Creşterea volumului de distribuţie**
  - Hiperhidratarea;
  - Creşterea permeabilităţii capilare : - septicemie, hipoxie.
- **Creşterea excreţiei/degradării**
  - Pierderi la nivel renal: sindromul nefrotic, glomerulonefrită;
  - Pierderi la nivel gastrointestinal: gastro-enteropatii exudative, mucoviscidoză, sindrom celiac;
  - Pierderi la nivel cutanat: eczeme, arsuri;
  - Hemoragii;
  - Stări hipercatabolice:
    - septicemii severe
    - febră
    - traume
    - patologii maligne

Există numeroase cauze posibile de hipoalbuminemie amintite mai sus, care pot avea consecințe importante asupra organismului. De exemplu, la un pacient care prezintă o malabsorbție datorată maladiei Crohn (afecțiune inflamatorie intestinală), un procent scăzut de albumină poate reflecta pe de o parte diminuarea sintezei sale (diminuarea aportului de aminoacizi datorat malabsorbției), iar pe de altă parte o creştere a pierderilor sale (direct în tubul digestiv, prin mucoasa ulcerată).

Referitor la valoarea diagnostică a concentrației serice de albumină, valori sub 3 g/100 ml sunt sugestive pentru un proces patologic.

Hiperalbuminemia poate fi atribuită unui artefact, cum ar fi de exemplu o stază venoasă în timpul recoltării de sânge, unei administrări intravenoase excesive de albumină sau unei stări de deshidratare. Sinteza de albumină este crescută în câteva stări patologice, însă nu determină niciodată hiperalbuminemie.

Albumina fixează bilirubina neconjugată, iar hipoalbuminemia creşte riscul de icter nuclear la copii cu hiperbilirubinemie neconjugată.

Albumina leagă numeroase medicamente, astfel încât o hipoalbuminemie poate avea consecințe farmaceutice importante, cum ar fi de exemplu creşterea concentrației formei libere a principului activ, mărind riscul de toxicitate.

Dozarea de albumină este utilizată ca marker al funcției hepatice. Datorită timpului de înjumătățire în plasmă relativ lung (17-23 zile), în general concentrația albuminei este normală în cursul unei hepatite acute. Concentrațiile scăzute de albumină sunt caracteristice afecțiunilor hepatice cronice, ele fiind corelate cu scăderea sintezei şi creşterea volumului de distribuție, ceea ce rezultă din retenția de lichide şi din formarea ascitei.

Bisanalbuminemia ereditară este o maladie transmisă autozomal, în care coexistă două forme moleculare diferite de albumină. (2 gene diferite). Expresia celor două gene se realizează în proporție de 50 % pentru fiecare: expresie co-dominantă. În bisalbuminemie, varianta proteică a albuminei prezintă o mobilitate electroforetică diferită de cea a albuminei normale, la electroforeză vizualizându-se o bandă dublă de albumină.

Analbuminemia Bennhold este o boală ereditară rară, transmisă autosomal recesiv, care apare la homozigoții născuți în special din părinți consanguini.

Anomalia constă în incapacitatea indivizilor de a sintetiza albumina, aceasta fiind absentă la electroforeză. Din punct de vedere clinic este rar simptomatică, uneori subiecții prezentând periodic edeme moderate şi constant hipotensiune.

α_1- antitripsina (α_1-AT)

α_1- antitripsina reprezintă o glicoproteină alcătuită dintr-un singur lanţ polipeptidic cu 394 de aminoacizi şi trei lanţuri glucidice. Are masa moleculară de 55 kDa şi reprezintă 90 % din fracţiunea α_1- globulinică din plasmă. pH-ul izoelectric (pHi) este 4,8 şi din această cauză, migrarea se face către anod la pH alcalin.

α_1- antitripsina este sintetizată în hepatocite şi are un timp de înjumătăţire de 5 zile, 40 % găsindu-se în plasmă, iar restul de 60 % fiind distribuită în spaţiile extravasculare, inclusiv în secreţii şi lichide biologice.

Este principalul inhibitor natural al proteazelor, responsabil de peste 90 % din capacitatea totală inhibitorie a enzimelor proteolitice. α_1- antitripsina prezintă un spectru larg de enzime proteolitice pe care le inhibă: tripsina, chimotripsina, elastaza, kalicreina, colagenaza, trombina, factorii XI şi X ai coagulării, renina şi elastazele leucocitare.

α_1- antitripsina are un rol esenţial în protejarea fibrelor de elastină pulmonare.

α_1- antitripsina este codificată de o pereche de alele codominante care influenţează multe din proprietăţile sale. Utilizând diferite tehnici de electroforeză au fost observate variante genetice de α_1- antitripsină incluse în aşa numitul sistem Pi (proteinase inhibitor), sistem care desemnează şi include polimorfismul genetic al α_1-AT. Au fost recunoscute peste 70 de alele electroforetice de α_1-antitripsină. Alela cea mai des întâlnită este alela M care în stare homozigotă determină fenotipul normal MM (indivizi PiMM), însă există şi numeroase fenotipuri heterozigote. Pentru studiul clinic, cele mai importante variante genetice sunt cele asociate cu nivele plasmatice scăzute ale α_1-AT, cele mai comune fiind alelele S şi Z.

Deficitul în α_1- antitripsină este datorat cel mai adesea unei homozigoţii pentru alela Z (PiZZ) ceea ce duce la apariţia emfizemului pulmonar. Emfizemul pulmonar este o afecţiune cronică ce constă din lărgirea spaţiilor de schimb gazos la nivel pulmonar, dincolo de bronşiola terminală, lărgire datorată distrucţiei pereţilor alveolari. La indivizii afectaţi, concentraţia plasmatică în α_1- antitripsină este cu 10-15 % mai mică în comparaţie cu cea normală. Deficitul apare ca urmare a substituţiei unui singur aminoacid, care determină formarea de agregate proteice. Aceste agregate nu pot fi secretate de ficat, ceea ce provoacă tulburări la nivelul acestuia. Proteina normală prezintă un grad mai mic de glicozilare, o posibilă consecinţă a retenţiei sale la nivelul hepatocitului.

Se pare că dezvoltarea emfizemului ar putea fi datorată şi absenţei inhibiţiei naturale a elastazei leucocitare de către α_1-antitripsină, ceea ce determină fenomene de alterare a structurilor pulmonare. Riscul emfizemului pulmonar este crescut considerabil de tabagism. În aceste cazuri de emfizem pulmonar, administrarea de plasmă sau de α_1-AT purificată nu par să aibă efecte favorabile. Doar transplantul hepatic poate ameliora prognosticul.

S-a observat că nu toţi homozigoţii PiZZ manifestă obligatoriu patologii hepatice şi pulmonare.

Heterozigoţii PiMZ au o concentraţie plasmatică de α_1- antitripsină de aproximativ 60 % faţă de cea normală. La aceşti indivizi, riscul de a dezvolta o patologie pulmonară este moderat crescut în comparaţie cu indivizii normali, homozigoţi PiMM. Alela S, relativ frecventă, nu reprezintă o cauză a deficitului în α_1- antitripsină. Câteva studii au sugerat faptul că heterozigoţii PiSZ prezentau o creştere uşoară a susceptibilităţii la afecţiunile hepatice, în timp ce la alţii nu s-a regăsit acelaşi rezultat.

Este necesar o fenotipare exactă pentru depistarea familiilor afectate. Aceasta implică tehnici speciale precum izoelectroforeza, pentru separarea şi identificarea proteinelor. Este posibilă şi depistarea genotipică antenatală, utilizând tehnica de polimerizare în lanţ (PCR), în scopul amplificării ADN-ului fetal obţinut din prelevările din vilozităţile coriale.

Valorile normale la un individ sănătos sunt cuprinse între 0,8 şi 2,0 g/l. Concentraţii slabe de α_1- antitripsină (< 0,8 g/l) au o importanţă clinică majoră atunci când sunt asociate unui emfizem pulmonar precoce (la 30-40 ani) sau unei patologii hepatice neonatale. Scăderi ale nivelului circulant de α_1- antitripsină la pacienţii fără deficit genetic pot fi foarte rare şi întâlnite doar în cazuri excepţionale, care implică un consum mare al inhibitorilor proteolitici, ca de exemplu în marile traumatisme, septicemii, sindromul de insuficienţă respiratorie acută, în cursul hemodializei cronice ş.a.

α_1- antitripsina este considerată o importantă proteină a fazei acute inflamatorii, sinteza ei fiind crescută în condiţiile unei inflamaţii acute sau cronice cu leziune şi distrucţie tisulară.

Observaţiile clinice raportează nivele serice crescute ale α_1-antitripsinei în infecţiile cronice şi acute respiratorii, virale sau bacteriene, intervenţii chirurgicale, infarct miocardic acut, hepatită virală acută şi hepatite cronice. Date recente sugerează un rol imunomodulator al α_1- antitripsinei prin acţiunea asupra limfocitelor T helper şi supresor.

α_1-glicoproteina acidă

Este o glicoproteină denumită în trecut orosomucoid sau α_1-seromucoid, care face parte din grupul proteinelor sintetizate în ficat în faza acută a unei inflamaţii sau a unei distrucţii celulare. Are o durată de înjumătăţire biologică de 2-3 zile. Este o proteină cu masă moleculară de 41 kDa, alcătuită dintr-un singur lanţ polipeptidic la care sunt ataşate 5 lanţuri oligozaharidice. Structura moleculei este stabilizată spaţial de două punţi disulfidice.

α_1-glicoproteina acidă este o proteină cu caracter foarte acid, având un pHi de 2,5. Migrarea electroforetică este rapidă spre anod, dar mai mică decât cea a albuminei, deşi pHi al orosomucoidului este mai mic. Aceasta arată că migrarea electroforetică nu depinde doar de pHi, ci şi de alţi factori care intervin.

Metabolismul şi catabolismul α_1-glicoproteinei acide se desfăşoară în ficat. Biosinteza hepatică de α_1-glicoproteina acidă este reglată de hormonii glucocorticoizi, hormonii tiroidieni şi de insulina indusă de alţi mediatori printre care citokinele (IL6, TNFα). De asemenea, a fost recent evocată şi implicarea oxidului nitric.

Activităţile biologice ale α_1-glicoproteinei acide sunt multiple şi în curs de identificare. Din datele clinice şi experimentale reiese că probabil α_1-glicoproteina acidă posedă în principal un rol imunomodulator, intervenind în numeroase interacţiuni celulare. Ea creşte reactiv alături de celelalte proteine de fază acută şi joacă un rol important în transportul corticosteroizilor, progesteronului, vitaminei B_{12} şi a unor medicamente.

Dozarea serică a acestei proteine are rolul de a pune în evidenţă existenţa unui sindrom inflamator, de a preciza caracterul acut sau cronic şi de a evalua răspunsul terapeutic. Această determinare se dovedeşte indispensabilă pentru interpretarea bilanţului proteic nutriţional şi intervine în special în calculul prognosticului inflamator şi al indexului nutriţional. În terapie, ea trebuie luată în considerare pentru alegerea posologiei anumitor medicamente.

Valorile normale serice ale α_1-glicoproteinei acide sunt cuprinse între 0,5-1,3 g/l. Valoarea diagnostică a proteinei constă în apartenenţa acesteia la grupul de proteine de fază acută, nivelele serice ajungând în inflamaţii să-şi dubleze valorile normale. La 3-5 zile de la debutul unui proces inflamator acut asociat unor distrucţii tisulare, se ating concentraţii serice maxime, revenirea la valorile normale făcându-se în aproximativ 3 săptămâni de la vindecare. Urmărirea concentraţiei serice de α_1-glicoproteină acidă permite supravegherea evoluţiei şi atingerii unui proces cronic inflamator şi monitorizarea terapiei în procese cronice degenerative, pneumopatii cronice, infarctul acut miocardic, glomerulonefrite cronice, boala de iradiere, poliartrita reumatoidă, hemodializa cronică, tumori maligne, când proteina atinge

valori crescute în concordanță cu evoluția procesului patologic. Concentrația serică de α_1-glicoproteină acidă crește rapid după 48 de ore de la operațiile chirurgicale, după care scade ușor până la 120 de ore, indiferent de gravitatea rănii. La nou-născuți, nivelul α_1-glicoproteinei acide în ser reprezintă o analiză importantă în stabilirea diagnosticului deoarece creșterea acestei proteine indică prezența unor infecții bacteriene în organism.

Valori serice sub nivelul normal ale α_1-glicoproteinei acide se remarcă în sindroamele de malnutriție sau hepatopatiile cronice și ciroze, ca urmare a scăderii ratei de sinteză. Valori scăzute apar în sindromul nefrotic datorită pierderilor urinare. De asemenea valori ușor scăzute se observă în timpul sarcinii și la nou-născuți.

Haptoglobina

Haptoglobina este o proteină de transport și o proteină de inflamație, care se sintetizează în hepatocite. Aparține α_2-globulinelor, fiind o glicoproteină cu masa moleculară de circa 86 kDa și un pHi de 4,2. Este alcătuită din două catene ușoare α și două catene grele β. Polimorfismul genetic al catenelor α a condus la apariția a trei fenotipuri de mase moleculare diferite: Hp 1-1, Hp 2-1 și Hp 2-2. Cel mai frecvent fenotip prezent în Europa este Hp 1-1, având o masă moleculară de 86 kDa. Sinteza haptoglobinei este mai ales hepatică, iar perioada sa biologică de înjumătățire variază între 3-5 zile. Catabolismul său se realizează în ficat și în macrofage.

Rolul său fiziologic este acela de a lega hemoglobina liberă eliminată în plasmă în cursul hemolizei hematiilor îmbătrânite. Complexele hemoglobină-haptoglobină formate sunt epurate de sistemul reticulo-endotelial și în consecință concentrația haptoglobinei scade brusc (timpul de înjumătățire este de aproximativ 20 minute). Datorită acestui fapt, o concentrație plasmatică scăzută de haptoglobină constituie un marker de hemoliză intravasculară. Din cauza dimensiunilor lor reduse, moleculele de hemoglobină ar trece ușor peste filtrul glomerular în urină, însă sub formă legată sunt reținute în circulație, iar fierul conținut în ele poate fi reutilizat. Concentrația serică normală a haptoglobinei este de 0,3-2 g/l.

În afara hemolizelor intravasculare, concentrații scăzute de haptoglobină pot fi legate și de diminuarea sintezei sale, în afecțiuni hepatice cronice și septicemiile severe. Dimpotrivă, sinteza de haptoglobină este crescută în faza acută a inflamațiilor. Ca o consecință a acestui fapt, o diminuare a concentrației haptoglobinei datorată unei hemolize poate fi parțial compensată, concomitent, printr-o creștere a concentrației sale ca urmare a unei reacții

inflamatorii acute. Dozarea haptoglobinei este indicată atunci când dorim să apreciem gravitatea şi stadiul hemolizelor intra-vasculare şi proceselor inflamatorii acute.

Valori crescute ale concentraţiei haptoglobinei apar de asemenea în sindromul nefrotic, neoplazii, şi boli infecţioase.

α_2-macroglobulina (α_2-MG)

α_2-macroglobulina este o glicoproteină cu masă moleculară mare (850 kDa) care domină cantitativ fracţiunea electroforetică α_2, reprezentând aproximativ o treime din totalul de α_2-globuline. Molecula α_2-macroglobulinei este alcătuită din două lanţuri polipeptidice legate prin punţi disulfidice şi are un pHi de 5,4.

α_2- macroglobulina este sintetizată parţial la nivel hepatic, dar şi extrahepatic, în monocite, limfocite, celule endoteliale şi fibroblaşti.

Principala funcţie a α_2- macroglobulinei este de a inhiba carboxil-, tiol-, serin- şi metal-proteazele, dintre care cele mai importante sunt enzime ale coagulării (plasmina, trombina, kalicreina), proteazele neutre, elastazele, colagenazele de origine leucocitară, precum şi catepsina G. Enzimele complexate cu acest inhibitor îşi pierd activitatea proteolitică, dar îşi păstrează activitatea esterazică sau amilolitică. Găsindu-se la suprafaţa membranelor limfocitelor, α_2- macroglobulina are funcţii imunoreglatoare, având rol în supresia şi inhibarea sintezei imunoglobulinelor. Alături de albumină, este implicată în transportul unor ioni (în special al ionilor de zinc) şi al unor hormoni (insulina).

În ser are o concentraţie de 1,5-3,5 g/l, cu o rată de sinteză de 400-700 mg/zi şi o rată zilnică de metabolizare de 6-8 %. Timpul său de înjumătăţire este de 5 zile, iar după complexarea cu proteazele scade la 10 minute.

Concentraţia α_2- macroglobulinei este crescută în sindromul nefrotic, sindroamele inflamatorii acute, hepatitele acute şi cronice, diabetul zaharat.

Scăderi accentuate ale nivelului seric al α_2- macroglobulinei sunt întâlnite în condiţiile unui consum exagerat din cadrul pancreatitei acute, a unor septicemii sau a coagulării intravasculare diseminate.

Deficitul genetic total al sintezei de α_2-MG este incompatibil cu viaţa, iar deficitul parţial, heterozigot, se asociază cu tulburări de coagulare pasagere, determinate de o fibrinoliză accentuată. Un polimorfism comun (29,5 % din populaţie) al genei α2-macroglobulinei este asociat riscului crescut de maladie Alzheimer, deşi mecanismul precis nu este cunoscut.

Ceruloplasmina

Ceruloplasmina este considerată o metaloglicoproteină prin prezența ionilor de cupru şi a unui glican în moleculă. Are o masă moleculară de 134 kDa, un pHi de 4,4 şi o mobilitate electroforetică de α_2-globulină. Din punct de vedere structural, se pare că ea este un octamer cu formula moleculară $\alpha_4\beta_4$, în care α şi β sunt subunități peptidice capabile să fixeze câte un ion de cupru bivalent (cupric). Prezintă un mare polimorfism, fiind descrise 7 fenotipuri de ceruloplasmină.

Ceruloplasmina este principala proteină de transport a cuprului în celulă, ea transportând spre organe aproximativ 90 % din cuprul existent în plasmă (7-8 ioni de cupru/moleculă de ceruloplasmină). De asemenea, ea este implicată şi în transportul cuprului de la mamă la făt.

Ceruloplasmina are rol în eritropoieză asigurând cataliza oxidării Fe^{2+}, formă sub care se găseşte în hepatocite, în Fe^{3+}, condiție esențială şi indispensabilă pentru integrarea sa în transferină. Studiul mecanismelor de capturare a cuprului de către această proteină şi studiul interacțiunilor dintre ceruloplasmină şi transferină - proteina transportoare de fier - vor permite înțelegerea rolului ceruloplasminei în transportul celor două metale. De asemenea, ceruloplasmina favorizează încorporarea fierului într-o proteină de rezervă, feritina.

După unii autori, prin limitarea producției de specii reactive, în timpul oxidării fierului feros (Fe^{2+}) în fier feric (Fe^{3+}), şi deci prin inhibarea peroxidării lipidelor indusă de către ionii metalici, ceruloplasmina participă la protecția organismului împotriva stresului oxidativ.

Se pare că ceruloplasmina ar fi de asemenea un modulator al inflamației. În cazul unei infecții, cuprul ar acționa şi el în mod direct pentru menținerea funcțiilor imunitare, atât a celor naturale cât şi dobândite. Cu toate că majoritatea studiilor au fost făcute pe şobolani fiind cu dificultate superpozabile la om, se pare totuşi că o carență în cupru ar induce o diminuare a numărului limfocitelor T. În ceea ce priveşte imunitatea naturală, carența în cupru se manifestă printr-o diminuare a numărului de neutrofile, precum şi prin diminuarea capacității acestora de a produce ionul superoxid necesar eliminării microorganismelor în procesul de fagocitoză. Cu toate acestea, nu a fost niciodată stabilit dacă nevoia de cupru necesar optimizării funcției imunitare este superioară celei necesare funcției de creştere.

Conținutul în ceruloplasmină al plasmei sanguine la nou-născut este foarte redus. Ca urmare, transportul cuprului în organismul său se realizează aproape exclusiv sub formă legată de albumină. În cursul săptămânilor următoare, cantitatea de ceruloplasmină creşte

treptat în plasmă, atingând la vârsta de 1 an valoarea normală de 2,0 µmoli/l, respectiv 35 mg %.

Concentrația sa crește în timpul sarcinii, sub influența estrogenilor. Fiind o proteină a fazei acute inflamatorii, concentrația ceruloplasminei crește în inflamații microvasculare, ciroză hepatică, infarct miocardic, tumori maligne, etc.

Stările carențiale de cupru pot apare în malabsorbție, uneori din cauza conținutului redus în cupru al alimentației, și foarte rar în cazul unor boli ereditare cum sunt boala Menkes și boala Wilson.

Boala Menkes (hipocupremie congenitală, sindromul părului obraznic, sindromul părului de oțel) se întâlnește într-un caz la 35.000-50.000 de copii. Afectează nivelul cuprului din corp, fiind cauzat de o mutație genetică a genei ATP-7A, ce duce la scăderea nivelului cuprului din creier și ficat și creșterea concentrației lui în intestinul subțire și rinichi.

Manifestările clinice includ:

- degradare progresivă neurologică manifestată prin lipotimii, iritabilitate, crize de epilepsie;
- hemoragii intracraniene;
- dificultate la înghițire;
- hipotermie;
- stern înfundat, piept escavat;
- păr subțire, cenușiu-blond, aspru, răsucit și friabil.

În urma accidentelor vasculare repetate, bolnavii depășesc rareori vârsta de 3 ani.

Boala Wilson (BW) reprezintă o boală ereditară, progresivă, cu prognostic grav, determinată de tulburări ale metabolismului cuprului, în sensul diminuării excreției hepatice de cupru, provocată de deficitul de ceruloplasmină, și are ca rezultat acumularea toxică de metal în ficat, creier, cornee și alte organe.

Maladia are o prevalență relativ constantă în populația generală, de 1:30 000.

Boala are transmitere autosomal recesivă, gena anormală fiind situată pe brațul lung al cromozomului 13 (q14-21); această genă ATP-7B codifică o proteină transportoare a cuprului, care funcționează ca o pompă, folosind ca sursă de energie ATP. S-au descoperit circa 80 de mutații la nivelul acestei gene. Mutațiile masive, care produc o inactivare completă a genei, conduc la forme severe de boală, cu apariția precoce a simptomatologiei, la vârsta de 2-3 ani.

Semnificativ este faptul ca la bolnavii din cadrul aceleiaşi familii există aceleaşi mutaţii. Boala apare în cazul homozigoţilor (cca 1 % din populaţie), heterozigoţii putând prezenta valori scăzute ale ceruloplasminei serice, însă nu dezvoltă boala şi nu necesită tratament. Legătura apropiată dintre locusul genei specifice bolii Wilson şi alţi indicatori cunoscuţi pe acest cromozom (13) face posibila identificarea stării de purtător prin analize de linkage, permiţând diagnosticul prenatal şi în funcţie de complexitatea mutaţiilor descoperite, putându-se stabili momentul optim pentru iniţierea tratamentului şi eventual pentru terapia genică.

Defectul metabolic în boala Wilson constă în imposibilitatea menţinerii unei balanţe apropiate de zero a cuprului în organism. Excesul de cupru, care în cantităţi mici este esenţial pentru viaţă, se acumulează din cauza lizozomilor hepatici, care blochează mecanismul de excreţie al cuprului în bilă, clivat catabolic de ceruloplasmina. Aceasta poate cauza deficienţa ceruloplasminei, *in vitro* constatându-se faptul că excesul de cupru inhibă formarea ceruloplasminei din apoceruloplasmină şi cupru. Capacitatea hepatocitelor de a stoca cupru este depăşită şi astfel acesta este eliberat în sânge, apărând depozitarea extrahepatică. În boala Wilson, există mai mult cupru decât poate fi legat de proteinele specifice, el fiind la fel de toxic ca şi fierul sau zincul nelegat de proteine.

Consecinţele patologice ale acumulării de cupru apar iniţial în ficat, precoce. La microscopul electronic se observă încărcarea grasă şi depozite de glicogen, lărgirea celulelor Kupfer şi balonizarea hepatocitelor, ca şi anomalii mitocondriale (vacuole mari, care conţin material granular.

Decesul se poate produce din cauza depunerilor de cupru la nivelul SNC, provocând necroza neuronilor. În rinichi, depunerile de cupru produc puţine modificări structurale şi nu alterează în general funcţia renală.

Nou-născuţii au nivele scăzute de ceruloplasmina în plasmă şi concentraţii hepatice crescute de cupru. Fiziologic, în timpul primului an de viaţă, aceste valori tind să se normalizeze, în timp ce la bolnavii cu BW concentraţia de cupru hepatic rămâne ridicată.

Manifestările clinice ale excesului de cupru sunt totuşi rare, înaintea vârstei de 5-6 ani, iar circa jumătate dintre pacienţi rămân asimptomatici până la adolescenţă. Manifestările la debut pot fi hepatice (mai frecvente în copilărie), neurologice (debut mai frecvent după 20 ani) şi mai rar ambele. Manifestările clinice ale BW sunt foarte variate, dar au tendinţa de a respecta un pattern familial. In principiu, cu cât bolnavul este mai tânăr la debut, cu atât există o frecvenţă mai mare pentru afectarea hepatică, care poate fi: hepatomegalie însoţită sau nu de splenomegalie, hepatită acută, hepatită fulminantă, hepatită cronică agresivă sau ciroză.

La aproximativ 40 % din pacienţi, debutul poate fi prin manifestări extrahepatice.

Tulburările neurologice şi psihiatrice sunt primele care apar, în cadrul debutului tardiv al bolii (după adolescenţă) şi sunt întotdeauna acompaniate de inelele Kaiser-Fleischer. Acest depozit auriu de cupru în cornee nu afectează vederea. Rar, acestea pot fi acompaniate de cataractă ("în floarea soarelui"). Absenţa inelele Kaiser-Fleischer la un pacient cu manifestări neurologice sau psihiatrice exclude diagnosticul de boală Wilson. Primele manifestări neurologice sunt tulburările de motricitate, frecvent de tip extrapiramidal, iar în evoluţie sunt notate tremur intenţional, spasticitate, coree, disfagie şi dizartrie.

Modificările senzoriale sunt absente.

Tulburările psihiatrice sunt foarte frecvente şi se manifestă prin paranoia, deliruri şi comportamente de tip schizoid care nu pot fi distinse de schizofrenie, psihoze maniaco – depresive; aceste tulburări, când apar la copii, nu devin manifeste decât la pubertate.

La 10 % din pacienţi, debutul clinic nu se manifestă nici prin tulburări hepatice, nici prin afectare SNC; boala se poate manifesta în aceste cazuri prin afectare neuroendocrinologică, şi anume: ginecomastie, pubertate întârziată, amenoree.

Afectarea renală se manifestă prin hematurie, proteinurie, sindromul Fanconi şi acidoză tubulară renală, dar apar mai frecvent la pacienţii netrataţi şi nu produc boala clinică manifestă renală.

Alte afecţiuni asociate BW pot cuprinde pancreatita, cardiomiopatia, osteoporoza sau osteomalacia.

Transferina

Transferina (siderofilina) este o glicoproteină şi reprezintă aproximativ 50 % din β-globuline. Este principala proteină transportatoare de fier din plasmă în condiţii normale, având o saturaţie în fier de 30 %.

Sinteza transferinei are loc în principal la nivelul hepatocitelor, dar şi în macrofagele organelor limfoide, şi accesoriu în limfocite. Nivelul sintezei sale de către hepatocite este invers proporţional cu cantitatea de fier prezentă în celule. O diminuare a rezervelor de fier antrenează o creştere a nivelului transferinei. Cea mai mare parte a transferinei este circulantă, putând fi identificată şi în lichidele biologice cum sunt lichidul cerebro-spinal, sinovial, corpul vitros, urină sau bilă. Concentraţia plasmatică a transferinei este de 2-3,8 g/l, iar timpul de înjumătăţire al acesteia este de 7 zile. Metabolizarea are loc la nivelul celulelor epiteliului tubular renal, gastro-intestinal şi tegumentar.

Transferina are un pHi cuprins între 5,5-5,9 şi migrează la electroforeză în zona β_1.

Molecula sa are o greutate moleculară de 76 kDa, fiind alcătuită dintr-un lanţ polipeptidic şi două lanţuri glucidice, unde se găsesc situsurile de legare a ionilor de fier. Totuşi, situsurile de legare a fierului nu sunt specifice, molecula putând interacţiona şi cu alţi ioni metalici: Zn^{2+}, Cu^{2+}, Co^{3+}, Mn^{2+}, Cr^{3+}.

Apotransferina, molecula fără ionii de fier, este o proteină incoloră. După încărcarea cu două molecule de Fe^{2+} devine roşiatică.

Transferina prezintă un polimorfism genetic determinat de trei alele codominante (C, B, şi D), cu mai multe subtipuri (C_1, C_2, etc.), care generează peste 20 de variante fenotipice de proteină, fără a se identifica între ele diferenţe imunochimice sau biochimice în legarea fierului. Transferina C este cea mai răspândită la toate populaţiile necolorate. Transferina B şi transferina D se întâlnesc la populaţiile de culoare (rasa neagră şi galbenă).

Funcţia fiziologică principală a transferinei este aceea de a transporta fierul de la nivel intestinal la nivel hepatic, splenic, muscular şi mai ales la nivelul măduvei hematopoietice, unde ionul este implicat în sinteza hemoglobinei, mioglobinei, a unor enzime ca cele din lanţul respirator, sau unde poate participa în calitate de cofactor la sinteza unor proteine.

O altă funcţie importantă a transferinei este cea de legare a fierului liber din circulaţie, concentraţii mai mari de 10 μg/l Fe^{3+} liber având repercursiuni negative asupra reacţiilor enzimatice tisulare.

Atât *in vivo* cât şi *in vitro*, transferina prezintă un puternic efect bacteriostatic, efect conferit de marea aviditate a proteinei pentru Fe^{3+} pe care îl blochează, nepermiţând bacteriilor utilizarea cationului în cadrul propriului lor metabolism.

Transferina este şi un marker al stării nutriţionale şi a alcoolismului, datorită pe de o parte a capacităţii sale de reînnoire rapidă, a sensibilităţii sale la denutriţie, iar pe de alta a micro-heterogeneităţii sale moleculare.

Atransferinemia congenitală, maladie foarte rară, constă în anemie hipocromă microcitară debutată în copilărie, cu nivele serice ale transferinei extrem de scăzute (0-0,4 g/l), nefiind clar precizat dacă defectul genetic constă într-o deficienţă de sinteză sau de reglare a sintezei de proteină.

Se observă o diminuare a transferinei în reacţiile inflamatorii cronice, subacute şi acute severe. De asemenea, transferinemia este scăzută în insuficienţa hepatocelulară: determinarea raportului IgA/transferină contribuie la stabilirea diagnosticului şi a prognosticului afecţiunilor cirotice. Creşterea acestui raport este corelată cu scăderea transferinemiei, la rândul ei proporţională cu gradul de insuficienţă hepatocelulară.

Nivelul seric al transferinei mai este scăzut în stările de denutriţie, în pierderile proteice renale, gastrointestinale sau cutanate (arsuri), boli maligne, inflamaţii acute şi supraîncărcarea cu fier.

O creştere a transferinemiei se remarcă în carenţa în fier a organismului, datorată fie unui aport insuficient (gravide, copii, bătrâni), fie unei perturbări de absorbţie (gastrite, gastrectomie, tranzit accelerat), fie unei sângerări minore cronice digestive sau genitale.

De asemenea, o transferinemie crescută apare atunci când există cantităţi mari de estrogeni de origine endogenă (sarcină, anumite tireotoxicoze) sau iatrogenă (tratament cu anticoncepţionale, estrogenoterapie la femeile în menopauză sau la bărbaţii cu cancer de prostată), când se administrează medicamente (diuretice tiazidice), sau în cazuri de hipogonadism sever la bărbaţi, prin deficit de androgeni.

Proteina C reactivă (CRP)

Apărarea organismului împotriva infecţiilor sau agresiunilor este esenţială pentru autoprotecţie. Atunci când întâlneşte astfel de situaţii, organismul elaborează cu rapiditate o serie complexă de reacţii în scopul de a elimina agenţii patogeni infecţioşi, de a preveni continuarea degradării tisulare şi de a facilita repararea ţesutului alterat. Interesul pentru acest tip de reacţii a început încă din 1930, atunci când în plasma pacienţilor cu pneumonie acută pneumococică a fost descoperită proteina C reactivă (C-Reactive Protein – CRP), denumită astfel datorită capacităţii sale de a fixa polizaharidul C al *Pneumococcus*.

CRP s-a dovedit a fi implicată în modificările sistemice ce au loc în timpul fazei acute a răspunsului inflamator, aparţinând prin urmare categoriei proteinelor fazei acute. Datorită rolului aparent în apărarea împotriva patogenilor infecţioşi, răspunsul fazei acute poate fi considerat o manifestare importantă a imunităţii înnăscute. Termenul de fază acută se referă la un ansamblu de modificări fiziologice complexe, care survin ca urmare a unui traumatism, arsuri, infecţii, inflamaţii, ş.a. În faza acută au loc modificări hemodinamice, o activare a procesului de coagulare şi fibrinoliză, o leucocitoză, variaţii ale concentraţiei unor proteine plasmatice şi efecte sistemice, în special piretice. Această fază acută este mediată de un ansamblu de citokine, factori de necroză şi substanţe vasoactive.

Proteina C reactivă se distinge de alte proteine ale reacţiei inflamatorii (ceruloplasmina, α_1- antitripsina, α_1- glicoproteina acidă, haptoglobina, fibrinogenul, ş.a.) prin cinetica sa foarte rapidă, cu o perioadă de înjumătăţire de 12 ore. CRP creşte după 6-7 ore de

la o agresiune, pentru a atinge un maxim după 72 de ore, concentrația sa revenind la normal după o săptămână. CRP nu traversează placenta, acest lucru prezentând un interes în patologia neonatală.

Proteina C reactivă umană este un membru al unei vechi și înalt conservate familii filogenetice de proteine numite pentraxine („cinci bariere" în limba greacă). Termenul reflectă structura unică a acestor proteine, formate din 5 subunități identice asociate necovalent și aranjate simetric în jurul unui por central. Conservarea familiei pentraxinelor, precum și absența cazurilor de oameni sau animale deficiente în CRP, arată rolul fundamental și indispensabilitatea biologică a CRP pentru apărarea și supraviețuirea organismului.

Proteina C reactivă este capabilă să fixeze, într-o manieră dependentă de Ca^{2+}, fosforilcolina, o componentă a numeroase polizaharide bacteriene și fungice, și a numeroase membrane celulare. În condiții normale, conformația fosforilcolinei din membranele celulare o face inaccesibilă CRP; în timpul apoptozei și a necrozei, constituenții lipidici membranari sunt perturbați sau oxidați, conformația fosforilcolinei membranare fiind și ea modificată. Astfel, celula poate fi fixată de CRP și opsonizată în vederea fagocitozei. CRP poate opsoniza microorganismele și celulele alterate într-un mod indirect, prin activarea sistemului complement pe cale clasică, ceea ce conduce la fagocitoza de către monocite a celulelor opsonizate cu componentele complementului.

A fost demonstrată capacitatea CRP de a stimula activitatea tumoricidă a monocitelor, de a induce producția de citokine pro-inflamatorii de către macrofage, de a stimula sinteza de factori tisulari de către monocite, precum și de a limita expresia receptorilor pentru IL-6 în neutrofile. Ca un rezultat, CRP este nu numai o componentă importantă a imunității înnăscute, dar și o legătură între laturile celulară și umorală ale imunității. Prin capacitatea ei de a fixa deopotrivă cromatina nucleară sau histonele, CRP poate lega celulele necrotice și apoptotice, prin recunoașterea materialului nuclear de pe suprafața celulară. Din punct de vedere imunologic, stimularea eliminării celulelor apoptotice prin opsonizarea cu CRP ar putea preveni dezvoltarea potențială a unor răspunsuri autoimune antigen-specifice.

Funcțiile CRP pot fi rezumate astfel:

- Opsonizarea (fixarea fosforilcolinei exprimate pe suprafața patogenilor și a celulelor apoptotice; stimularea fagocitozei prin receptorii F_C de pe suprafața fagocitelor);
- Activarea căii clasice a sistemului complement (rezultând în opsonizarea patogenului sau a celulei apoptotice; stimularea fagocitozei prin receptorii pentru complement de pe suprafața fagocitelor);

- Imuno-modularea pro-inflamatorie:
  - Inducerea activității tumoricide a monocitelor/macrofagelor
  - Inducerea producției de H_2O_2, precum și a secreției de IL-1 și de TNF de către monocite/macrofage
- Imuno-modularea anti-inflamatorie:
  - Limitarea expresiei de L-selectină și receptori IL-6 de către neutrofile
  - Inhibarea activității neutrofilelor
- Aterogeneză.

În ciuda lipsei de specificitate pentru o maladie particulară, gama extrem de largă a modificărilor de ordin biochimic, fiziologic, neuroendocrin și hematologic care au loc în timpul fazei acute a răspunsului inflamator oferă numeroși biomarkeri potențiali pentru diagnosticul precis și monitorizarea severității inflamației, ori pentru evaluarea eficacității tratamentului. Spre exemplu, de vreme ce modificările concentrațiilor plasmatice ale proteinelor fazei acute pot fi relevante pentru prezența sau intensitatea procesului inflamator, măsurarea acestor proteine ar putea fi utilă în diferențierea maladiilor inflamatorii de cele non-inflamatorii, permițând stabilirea unui tratament adecvat.

La ora actuală, cele mai utilizate metode pentru evidențierea condițiilor inflamatorii sunt rata de sedimentare eritrocitară (ESR) și concentrația serică a CRP. În privința ESR, este vorba de o determinare indirectă a concentrației fibrinogenului plasmatic, putând fi cu ușurință afectată de factori fiziologici sau patologici ne-inflamatori.

Nu există cauze cunoscute până la ora actuală de diminuare a concentrației plasmatice de CRP. Totuși, în cazurile de insuficiență hepatocelulară severă, răspunsul inflamator este diminuat datorită imposibilității ficatului de a produce CRP.

Cauza principală a creșterii concentrației CRP este inflamația. Astfel, o creștere netă a nivelului plasmatic de CRP se întâlnește în următoarele situații:

- Infecții bacteriene (neonatale și post-chirurgicale);
- Patologii reumatismale (poliartrită reumatoidă, spondilartrită anchilozantă, vascularită);
- Patologii digestive (boala Crohn);
- Afecțiuni maligne (limfom, sarcom, carcinom);
- Necroze ischemice (infarct);
- Traumatisme (chirurgie, arsuri).

De asemenea, putem observa o creştere discretă a CRP în infecţiile virale, conjunctivite, leucemii, anumite patologii digestive (rectocolita hemoragică).

Prin urmare, proteina C reactivă creşte în toate bolile acute şi cronice care se acutizează: în infecţii, în reumatismul articular acut, poliartrita reumatoidă, boala Crohn, artrita cronică juvenilă, spondilita anchilozantă, sindromul Reiter, vasculite sistemice sau cutanate, sindromul Behcet, rectocolita hemoragică. Bolile în cauză dau distrugeri de ţesuturi care duc la modificări serice ale proteinelor de fază acută. Valoarea proteinei C reactive poate creşte până la 3000 de ori în reumatismul articular acut, poliartrita reumatoidă, boala Crohn şi rectocolita hemoragică . Infecţiile virale dau o creştere mai redusă decât infecţiile bacteriene. În unele boli ca lupus eritematos sistemic, sclerodermia, sau dermatomiozita, CRP creşte doar foarte puţin. Urmărirea în aceste cazuri a nivelelor serice al CRP este foarte importantă, pentru că arată o acutizare, o agravare a bolii. Aceste boli sunt caracterizate printr-o inflamaţie, care poate să fie de natură infecţioasă sau autoimună.

Concentraţia plasmatică a CRP este un factor ce se modifică prompt în răspuns la schimbările ce intervin în condiţii inflamatorii, şi care nu este influenţat puternic de sex sau de vârstă. Gama valorilor anormale ale CRP (1-1000 μg/ml) furnizează de asemenea o metodă sensibilă pentru detecţia condiţiilor inflamatorii. Concentraţia plasmatică a CRP poate fi măsurată printr-o varietate de teste disponibile comercial, precum ELISA, RIA, teste imunofelometrice sau imunoturbidimetrice. Aceste teste sunt în general excelente din punct de vedere al specificităţii, limitele sensibilităţii fiind de 3-5 μg/ml. În contextul asocierii recente a CRP cu maladii inflamatorii cronice precum ateroscleroza, au fost elaborate teste CRP de o sensibilitate mult mai înaltă, pentru a cuantifica mai precis concentraţiile CRP plasmatice, la intervale fiziologice mult mai joase (0,1-2 μg/ml).

Nivelul plasmatic al CRP la majoritatea indivizilor sănătoşi este inferioară sau egală cu 2 μg/ml, unii indivizi având concentraţii CRP de până la 10 μg/ml. Acest interval deosebit de larg de concentraţii plasmatice normale se datorează unor agresiuni sau infecţii nesemnificative din punct de vedere clinic, prezente la indivizii sănătoşi.

Cercetări recente arată însă faptul că nivelul crescut, deşi încă fiziologic, al CRP plasmatice, ar putea fi un factor predictiv pentru dezvoltarea maladiilor cardiovasculare la indivizi aparent sănătoşi. Numeroase studii clinice corelează concentraţiile semnificativ crescute ale CRP serice cu stările inflamatorii asociate infecţiilor bacteriene severe (meningite bacteriene, artrite septice, pneumonii bacteriene, etc.). Valorile CRP pot fi de asemenea utile în diferenţierea acestor infecţii de unele mai puţin severe (pielonefrită acută *versus* cistită

acută, pneumonie acută bacteriană *versus* bronşită acută, meningită bacteriană *versus* meningită aseptică, etc.).

Anumite studii retrospective şi prospective au arătat recent faptul că nivelul CRP plasmatic ar putea fi utilizat ca marker al inflamaţiei locale şi al infecţiilor precum apendicita acută. La pacienţii în post-operator, nivelul ridicat al CRP poate prezice complicaţii septice înainte de manifestările clinice ale acestora. De asemenea, au fost observate concentraţii crescute de CRP la pacienţi cu afecţiuni maligne sau cu boli reumatice (artrită reumatoidă). În schimb, majoritatea pacienţilor cu lupus eritematos sistemic nu prezintă modificări CRP în cursul stării active a bolii; la aceşti pacienţi, nivelul CRP creşte considerabil în urma infecţiilor bacteriene multiple.

Din ce în ce mai multe dovezi experimentale sugerează faptul că ateroscleroza ar fi o maladie inflamatorie cronică. Se consideră că degradarea pereţilor vasculari, asociată cu hiperlipidemie, hipertensiune, stres fizic ori infecţii, ar putea conduce la disfuncţia celulelor endoteliale, la expresia crescută a unor molecule de adeziune, la producţia amplificată de citokine şi de mediatori ai inflamaţiei, la infiltrarea celulelor inflamatorii, precum şi la proliferarea celulară la nivelul muşchilor netezi vasculari. Din acest punct de vedere, a devenit foarte atractivă ideea de a corela anumiţi markeri ai inflamaţiei cu evoluţia naturală a afecţiunii cardiovasculare aterosclerotice. Rezultatele arată că nivelele serice ale proteinelor fazei acute (ca de exemplu CRP), markeri convenţionali ai inflamaţiei sistemice, ar putea reprezenta soluţii de investigare a progresiei inflamaţiei focale precum cea de la nivelul pereţilor vasculari aterosclerotici. Urgenţa de a identifica asemenea biomarkeri este cu atât mai justificată cu cât jumătate din cazurile de infarct miocardic survin la pacienţi cu concentraţii normale ale lipidelor plasmatice.

Mai recent, unele studii epidemiologice şi de laborator au demonstrat corelaţii remarcabile între concentraţiile serice ale CRP şi anumite aspecte ale afecţiunilor cardiovasculare, ca de exemplu dimensiunea infarctului de miocard acut, reacţiile adverse ulterioare infarctului, sau riscul ulterior de afecţiuni coronare acute. Astfel, pacienţii cu CRP plasmatică peste 3,6 µg/ml (considerat în mod tradiţional ca nivelul normal) prezintă un risc de două ori mai crescut de infarct de miocard şi de stop cardiac. Nivele crescute de CRP au fost găsite la pacienţi cu angină instabilă, faţă de cei prezentând angină stabilă sau maladii non-angină. Toate aceste rezultate demonstrează în mod evident importanţa concentraţiilor plasmatice ale CRP ca un indicator al severităţii maladiilor cardiovasculare sau/şi un factor prognostic.

Astfel, în cadrul nivelelor plasmatice joase, creşterea CRP ar putea creşte riscul relativ de maladii cardiovasculare la indivizii sănătoşi:

- Concentraţia CRP mai mică de 1 µg/ml este asociată cu un risc scăzut;
- Concentraţia CRP între 1 şi 3 µg/ml este asociată cu un risc moderat;
- Concentraţia CRP mai mare de 3 µg/ml este asociată cu un risc crescut, dozarea CRP trebuind completată cu un bilanţ lipidic;
- Concentraţia CRP mai mare de 10 µg/ml traduce un proces inflamator activ, necesitând refacerea dozajului după 2-3 săptămâni.

În schimb, la pacienţii cu un istoric de accident cardiovascular sau suferind de angor, în cadrul prevenţiei secundare, este dificilă asocierea unei valori prognostice dozajului individual al CRP.

A mai fost observat faptul că pacienţii cu CRP crescut erau cei mai avantajaţi de beneficiile tratamentului preventiv cu aspirină sau statine; la aceşti pacienţi se remarcă în plus o reducere semnificativă a riscului de accidente trombotice.

ALTE PROTEINE PLASMATICE

Procalcitonina

Procalcitonina este o proteină alcătuită din 116 aminoacizi care suferă o clivare în celulele C ale glandei tiroide, dând naştere calcitoninei. Procalcitonina prezintă o concentraţie crescută în faza acută a multor procese infecţioase. Originea şi funcţia procalcitoninei în faza acută sunt incerte. Ea nu poate înlocui proteina C-reactivă ca marker al fazei acute, însă dozarea ei poate furniza informaţii complementare, deoarece se pare că este mult mai sensibilă şi mai specifică într-un context infecţios, putând fi un posibil marker prognostic mai bun.

α-fetoproteina

α-fetoproteina este o glicoproteină cu masa moleculară de 67 kDa şi cu migrare electroforetică în regiunea α_1. Este sintetizată de membranele sacului vitelin, de ficatul şi intestinul fătului. Sinteza începe în a 4-a săptămână a vieţii intrauterine, ajungând la concentraţia maximă în serul fetal în săptămânile 10-13 (3000 µg/ml), apoi scăzând rapid până la 200 µg/ml în săptămâna a 32-a.

α-fetoproteina trece în urina fătului şi în consecinţă în lichidul amniotic în care atinge un raport maxim de 1/200 faţă de serul fetal în săptămânile 12-14, iar apoi scade paralel cu concentraţia din serul fetal. Concentraţiile maxime de α-fetoproteină în serul matern ajung în săptămânile 28-32 de gestaţie la aproximativ 500 µg/ml.

La adult, concentraţia normală este sub 10 µg/l. Timpul de înjumătăţire a α-fetoproteinei este de 5-6 zile.

α- fetoproteina este un marker al carcinoamelor hepatocelulare şi al teratoamelor testiculare.

Cancerul primitiv de ficat este mai puţin frecvent şi din acest motiv depistarea generală a acestuia nu ar fi justificată. Cu toate acestea, anumite categorii de pacienţi – în special cei cu ciroză sau hemocromatoză – prezintă un risc crescut pentru cancerul hepatic şi, din acest motiv, o depistarea selectivă (de exemplu la fiecare 6 luni) bazată pe dozarea α-fetoproteinei ar putea fi interesantă. Concentraţiile de α-fetoproteină sunt crescute la majoritatea pacienţilor cu ciroză şi carcinom hepatocelular, dar numai aproximativ jumătate din aceştia prezintă o tumoră în absenţa cirozei. O concentraţie mai mare de 500 µg/l la un bolnav cirotic conduce la presupunerea unui diagnostic de carcinom hepatic. Evidenţierea unor concentraţii cuprinse în intervalul 50-500 µg/l necesită investigaţii complementare.

În calitate de marker tumoral, α-fetoproteina nu prezintă specificitate: concentraţii până la 100 µg/l pot fi întâlnite în caz de ciroză, în absenţa procesului tumoral. α-fetoproteina se pare că nu are valoare prognostică. În acelaşi timp, în cancerul de ficat, confirmat histologic, dozările repetate de α-fetoproteină au o importanţă considerabilă în urmărirea răspunsului la tratament. Regenerarea hepatică normală care survine după rezecţia parţială poate antrena o creştere a concentraţiei α- fetoproteinei, dar numai în mod tranzitoriu.

La pacienţii cu teratom testicular, dozarea α-fetoproteinei are o valoare prognostică, contribuind la instaurarea şi urmărirea tratamentului. O concentraţie foarte crescută indică o încărcare tumorală importantă şi un prognostic slab (procentul de mortalitate devine peste 40 % dacă concentraţia α-fetoproteinei depăşeşte 1,26 mg/l). O revenire rapidă la normalitate a

concentrației α-fetoproteinei după orhidectomie semnifică faptul că afecțiunea a fost limitată doar la nivelul testiculelor. S-a constatat o remisiune la 80 % din pacienții cu teratom metastatic al testiculelor, prin combinarea chirurgiei cu chimioterapia.

Eficacitatea tratamentului poate fi evaluată prin diminuarea concentrației plasmatice de α-fetoproteină, care reflectă diminuarea masei tumorale. În momentul în care un pacient este în remisiune, dozările repetate sunt esențiale; o creștere a concentrației este datorată unei recidive a tumorii și indică necesitatea unei cure suplimentare sau schimbarea protocolului chimioterapiei.

Trebuie notat și faptul că un nivel plasmatic de α-fetoproteină situat în intervalul de „normalitate" poate fi compatibil cu prezența unei tumori; o creștere a concentrației, chiar în mijlocul intervalului de referință ar trebui să conducă la suspiciunea unei recidive. Pe de altă parte, tumorile își pot pierde capacitatea de secreție a α- fetoproteinei, încât evaluarea clinică minuțioasă constituie un element esențial în monitorizarea bolnavului.

Antigenul carcinoembrionar (ACE)

Acest marker tumoral este prezent în concentrații crescute în plasma a 60 % din pacienții afectați de cancer colorectal, mult mai frecvent în stadiile avansate (80-100 % dacă sunt prezente și metastaze hepatice) decât în tumorile localizate la nivelul colonului.

În același timp, concentrații crescute de ACE pot fi întâlnite într-un număr mare de afecțiuni non tumorale, incluzând diferite patologii hepatice, pancreatite și patologii digestive inflamatorii. De asemenea, concentrații mari se observă și la marii fumători.

ACE nu este nici specifică nici suficient de sensibilă pentru a fi utilizată în depistarea cancerului colorectal. Concentrațiile plasmatice de ACE sunt slab corelate cu masa tumorală, ceea ce limitează dozarea sa în urmărirea tratamentului. După rezecția chirurgicală a tumorii, concentrația plasmatică de ACE trebuie să scadă brusc.

Determinarea altor proteine plasmatice poate oferi informații interesante în indicații speciale și care fac obiectul altor domenii medicale. Astfel, dozarea factorilor de coagulare (fibrinogenul, factorul VII, ș.a.) reprezintă analize de rutină în laboratoarele de hematologie.

IMUNOGLOBULINELE

Imunoglobulinele, denumite în mod generic anticorpi, sunt proteine prezentatoare de antigene, prezente pe suprafaţa membranară a limfocitelor B sau secretate de către celulele B efectoare (plasmocite). Imunoglobulinele membranare conferă specificitate antigenică celulelor B; astfel, proliferarea antigen-specifică a clonelor de celule B este determinată de interacţiunea dintre anticorpul membranar şi antigen.

Imunoglobulinele secretate circulă în sânge, unde joacă rolul de efectori ai imunităţii umorale, prin căutarea şi neutralizarea antigenelor, sau prin marcarea acestora în vederea eliminării.

Toţi anticorpii posedă caracteristici structurale comune, se leagă de antigen şi participă la un număr restrâns de funcţii efectoare. Anticorpii produşi ca răspuns la un antigen particular sunt heterogeni. Cea mai mare parte a antigenelor prezintă o structură complexă posedând numeroşi determinanţi antigenici diferiţi, iar sistemul imun răspunde în general prin sinteza de imunoglobuline specifice mai multor epitopi ai antigenului. Acest răspuns necesită recrutarea mai multor clone de limfocite B, fiecare cu propria specificitate antigenică. Produsele fiecărei clone sunt anticorpi monoclonali, ce leagă specific fiecare un singur determinant antigenic. Împreună însă, toţi aceşti anticorpi monoclonali reprezintă la nivelul serului un amestec policlonal şi heterogen, garantând un răspuns imun umoral complex la antigenul imunizant.

Sângele poate fi separat prin centrifugare în două fracţii: una celulară, conţinând eritrocite, leucocite şi plachete, şi una fluidă, reprezentând plasma. Plasma conţine totalitatea moleculelor mici solubile şi a macromoleculelor sângelui, inclusiv fibrina şi alte proteine necesare pentru formarea coagulului. Dacă sângele integral sau plasma sunt lăsate să coaguleze, faza fluidă care rămâne este denumită ser.

Prima dovadă experimentală a localizării anticorpilor la nivelul serului sanguin a fost adusă în 1939 de către A. Tiselius şi E.A. Kabat. Aceştia au imunizat iepuri cu ovalbumină, separând ulterior serul iepurilor respectivi în două părţi alicotate. Electroforeza uneia din aceste părţi a evidenţiat patru picuri, corespunzătoare respectiv albuminei şi alfa (α), beta (β) şi gama (γ) globulinelor. Cealaltă parte alicotată a fost pusă în prezenţa ovalbuminei, electroforeza ei efectuându-se după îndepărtarea precipitatului format (precipitat conţinând prin urmare proteinele ce interacţionaseră cu antigenul). Compararea profilurilor electroforetice ale celor două părţi alicotate a evidenţiat (Figura V.3) o scădere drastică, în

cazul serului pus în prezenţa antigenului, a picului corespunzător γ-globulinei. Din acest motiv, fracţia γ-globulinică a serului a fost identificată drept conţinând anticorpii serici, care au fost astfel denumiţi imunoglobuline pentru a putea fi deosebiţi de orice altă proteină conţinută în fracţia γ-globulinică. Acest experiment a clasat proteinele serice în trei mari picuri nealbuminice – α, β şi γ. Astăzi este cunoscut faptul că, deşi imunoglobulina G (IgG), principala clasă a moleculelor de anticorpi, se găseşte într-adevăr cu precădere în fracţia γ-globulinică, concentraţii semnificative ale acesteia şi ale altor clase de imunoglobuline se găsesc deopotrivă în fracţiile serice α şi β.

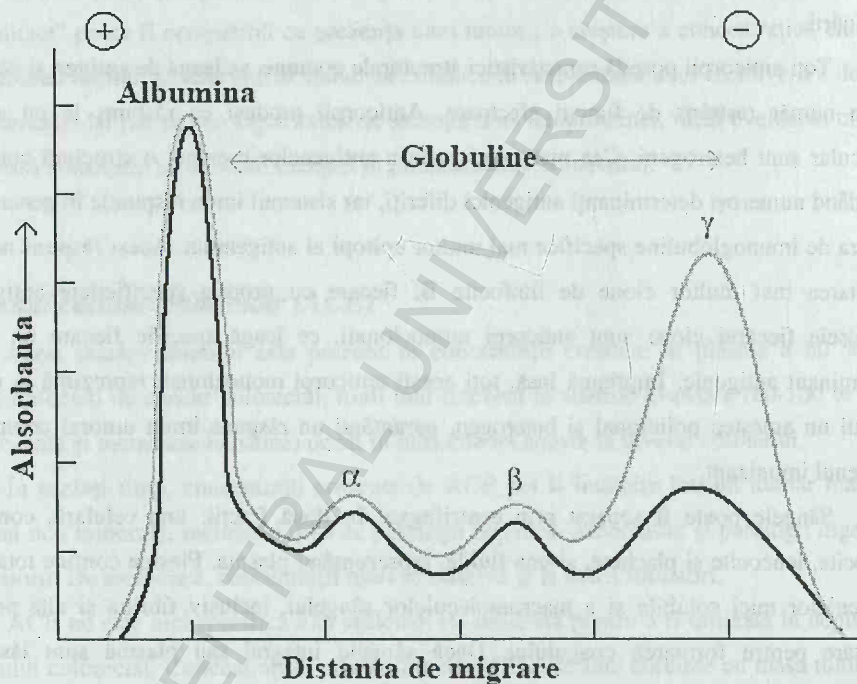


Figura V.3. Demonstrarea experimentală a faptului că majoritatea anticorpilor se găsesc în fracţia γ-globulinică a proteinelor serice

Curba superioară reprezintă profilul electroforetic al serului netratat, cea inferioară reprezentând profilul electroforetic după tratamentul cu antigen (Adaptat după Tiselius şi Kabat, 1939)

Structura imunoglobulinelor

Structura de bază a imunoglobulinelor

Moleculele de imunoglobuline posedă o structură comună heterodimerică formată din patru catene peptidice (Figura V.4). Structura consistă în două catene (lanţuri) polipeptidice identice uşoare (L, *light*), cu masa moleculară de 25 kDa, şi două catene (lanţuri) polipeptidice identice grele (H, *heavy*), cu masa moleculară de 50 kDa sau mai mult. La fel ca şi moleculele de anticorpi pe care le constituie, catenele H şi L sunt şi ele denumite imunoglobuline. Fiecare lanţ uşor este legat de un lanţ greu printr-o legătură disulfurică, precum şi prin interacţiuni necovalente de tip ionic, punţi de hidrogen sau legături hidrofobe, formând în felul acesta un heterodimer (H-L). Legături necovalente şi punţi disulfurice similare leagă între ele cele două combinaţii catenare identice H-L, pentru a forma structura heterodimerică de bază a imunoglobulinelor $(H\text{-}L)_2$, un dimer de dimeri. Numărul exact şi poziţiile precise ale punţilor disulfurice intercatenare diferă însă în funcţie de clasele şi subclasele anticorpilor.

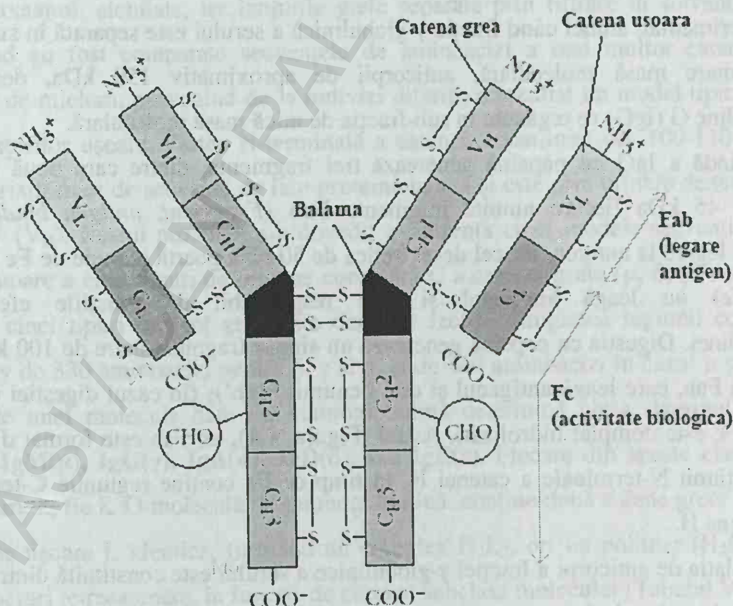


Figura V.4. Structura generală a unei molecule de imunoglobulină

Primii aproximativ 110 aminoacizi din regiunea N-terminală a catenelor H şi L prezintă o mare variabilitate între anticorpii cu specificităţi diferite. Aceste segmente cu secvenţă înalt variabilă sunt denumite regiuni V (*variable*): V_L pe catena uşoară şi V_H pe catena grea. Orice diferenţă de specificitate între diferite molecule de anticorpi corespunde unei diferenţe în secvenţa aminoacizilor din regiunile V. În fapt, majoritatea diferenţelor dintre anticorpi sunt centralizate în arii limitate ale regiunilor V, denumite regiuni determinante ale complementarităţii (*Complementarity-determining regions* – CDRs). Ariile CDR ale catenelor grele şi uşoare reprezintă situsul de legare a antigenului pe molecula de imunoglobulină. Dimpotrivă, în interiorul unei clase de anticorpi, foarte puţine diferenţe sunt observate la nivelul restului moleculei. Aceste regiuni cu o secvenţă relativ constantă poartă numele de regiuni C (*constant*): C_L pe catena uşoară şi C_H pe catena grea. Anticorpii sunt glicoproteine; cu doar câteva excepţii, situsurile de legare pentru resturile glucidice sunt grupate în regiunea constantă. Rolul jucat de glicozilare în funcţionalitatea moleculelor de imunoglobuline este destul de puţin înţeles, însă se pare că aceasta ar mări solubilitatea moleculelor. Glicozilarea neadecvată ori absenţa acesteia afectează rata de eliminare a anticorpilor din ser şi diminuează eficacitatea interacţiunilor anticorpilor cu receptorii lor sau cu proteinele complementului.

Experimental, atunci când fracţia γ-globulinică a serului este separată în sub-fracţii de mică sau mare masă moleculară, anticorpii de aproximativ 150 kDa, desemnaţi ca imunoglobuline G (IgG) se regăsesc în sub-fracţia de mică masă moleculară.

Digestia blândă a IgG cu papaină generează trei fragmente, dintre care două identice de aproximativ 45 kDa fiecare numite fragmente **Fab** (*Fragment, antigen binding*) conţin situsurile de legare la antigen, iar cel de-al treilea de 50 kDa poartă numele de **Fc** (*Fragment, crystallizable*) nu leagă antigenul şi este responsabil de funcţiile efectoare ale imunoglobulinei. Digestia cu pepsină generează un singur fragment mare de 100 kDa, format din cel două Fab, care leagă antigenul şi este denumit $F(ab')_2$ (în cazul digestiei cu pepsină, fragmentul Fc este complet hidrolizat). Astfel (Figura V.4), un Fab este format din catena L asociată porţiunii N-terminale a catenei H, în timp ce Fc conţine regiunile C-terminale ale ambelor catene H.

Populaţia de anticorpi a fracţiei γ-globulinice a serului este constituită dintr-un spectru de anticorpi deosebit de heterogen, ceea ce face dificilă analiza secvenţei de aminoacizi a imunoglobulinelor. Secvenţierea anticorpilor a fost posibilă datorită utilizării celulelor de mielom, plasmocite maligne ce apar în mielomul multiplu, care pe lângă capacitatea de a se

divide la nesfârşit, continuă să secrete anticorpi cu o singură specificitate. Celulele de mielom secretă şi o cantitate considerabilă de catene uşoare L în exces, denumite proteine Bence-Jones şi care au fost primele molecule imunoglobulinice analizate din punct de vedere al structurii primare.

Atunci când secvenţele de aminoacizi a mai multor proteine Bence-Jones (catene uşoare) provenind de la indivizi diferiţi au fost comparate, a rezultat un model tipic. Jumătatea amino-terminală a catenei, de aproximativ 100-110 aminoacizi, a fost identificată ca extrem de variabilă de-a lungul diverselor molecule studiate. Această regiune a primit denumirea de V (*variable*). Din contra, regiunea carboxi-terminală a moleculelor, denumită C (*constant*), s-a dovedit a prezenta doar două secvenţe posibile de aminoacizi. Acest lucru a condus la concluzia că există două tipuri de catene uşoare L, în funcţie de secvenţa regiunii C_L, şi anume tipul kapa (k) şi lambda (λ). O moleculă de imunoglobulină conţine un sigur tip de catenă uşoară, fie k fie λ, niciodată pe amândouă. În organismul uman, 60 % din lanţurile uşoare sunt kapa şi 40 % sunt lambda. La rândul ei, secvenţa catenei λ prezintă variaţii minore care sunt folosite pentru a clasifica lanţurile λ în subtipuri; în organismul uman, există patru subtipuri de catene uşoare (λ1, λ2, λ3, λ4), ce se diferenţiază între ele prin doar câteva poziţii de aminoacizi.

Pentru studiile de secvenţiere a catenelor grele H, proteinele de mielom au fost reduse cu mercaptoetanol, alchilate, iar lanţurile grele separate prin filtrare în solvent denaturant. Atunci când au fost comparate secvenţele de aminoacizi a mai multor catene grele ale proteinelor de mielom, provenind de la indivizi diferiţi, a rezultat un model tipic asemănător celui al lanţurilor uşoare. Partea N-terminală a catenei, constituită din 100-110 aminoacizi, prezintă variaţii mari de secvenţă de la o proteină la alta şi este prin urmare denumită regiune variabilă V (V_H). Restul proteinei s-a dovedit a prezenta cinci modele secvenţiale de bază, corespunzătoare a cinci tipuri de regiune constantă C a catenei grele (**μ, δ, γ, ε şi α**). Fiecare din aceste cinci tipuri de lanţ greu este denumit izotip. Lungimea regiunii constante este aproximativ de 330 aminoacizi pentru δ, γ şi α, şi de 440 aminoacizi în cazul μ şi ε. Catenele grele H ale unei molecule date de imunoglobulină determină clasa (izotipul) respectivei molecule: **IgM(μ), IgG(γ), IgA(α), IgD(δ),** sau **IgE(ε)**. Fiecare din aceste clase conţin fie catene uşoare k, fie λ. O moleculă de imunoglobulină conţine două catene grele H identice şi două catene uşoare L identice, formând un complex H_2L_2, ori un polimer $(H_2L_2)_n$, pe baza acestei structuri tetracatenare, în funcţie de clasa şi subclasa moleculei (Tabelul V.3).

În cazul lanţurilor grele α şi γ, diferenţe minore de secvenţă conduc la o clasificare suplimentară în subizotipuri, care determină subclasa moleculei de anticorp pe care o

constituie. În organismul uman, există două subtipuri de catenă grea α (α1 și α2 – deci două subclase IgA1 și IgA2) și patru subtipuri de catenă grea γ (γ1, γ2, γ3 și γ4 – deci patru subclase IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4) (tabelul V.3).

Tabelul V.3. Compoziția catenară a celor cinci clase de imunoglobuline

Clasa (izotipul)	Catena grea (H)	Subclase	Catena ușoară (L)	Formula moleculară
IgG	γ	γ1, γ2, γ3, γ4	k sau λ	$\gamma_2 k_2$ $\gamma_2 \lambda_2$
IgM	μ	–	k sau λ	$(\mu_2 k_2)_n$ $(\mu_2 \lambda_2)_n$ n = 1 sau 5
IgA	α	α 1, α2	k sau λ	$(\alpha_2 k_2)_n$ $(\alpha_2 \lambda_2)_n$ n = 1, 2, 3 sau 4
IgE	ε	–	k sau λ	$\varepsilon_2 k_2$ $\varepsilon_2 \lambda_2$
IgD	δ	–	k sau λ	$\varepsilon_2 k_2$ $\varepsilon_2 \lambda_2$

Structura fină a imunoglobulinelor

Structura moleculei de imunoglobulină este determinată de organizarea primară, secundară, terțiară și cuaternară a proteinei.

Structura primară, secvența de aminoacizi, contribuie la formarea regiunilor constante și variabile ale catenelor grele și ușoare. Structura secundară este formată prin plierea în spațiu (*folding*) a catenei polipeptidice extinse asupra ei însăși, pentru a forma o structură pliată β antiparalelă. Lanțurile peptidice sunt ulterior pliate într-o structură terțiară formată din domenii globulare compacte, conectate cu domeniile învecinate prin continuitatea lanțului polipeptidic în afara structurilor pliate β. În cele din urmă, domeniile globulare ale catenelor grele și ușoare interacționează între ele într-o structură cuaternară, formând astfel domenii funcționale ce permit moleculei să fixeze specific antigenul și, în același timp, să execute o seamă de funcții efectoare biologice.

Într-o analiză atentă a secvențelor de aminoacizi ale catenelor H și L s-a observat că ambele catene conțin mai multe unități de aproximativ 110 reziduuri de aminoacizi prezentând omologie între ele. La nivelul fiecăreia din aceste unități, denumite domenii, o punte disulfurică intracatenară formează o buclă de aproximativ 60 aminoacizi.

O catenă ușoară L este formată dintr-un domeniu variabil (V_L) și dintr-unul constant (C_L); o catenă grea H conține un domeniu variabil (V_H) și din trei sau patru domenii constante (C_H1, C_H2, C_H3 și C_H4), în funcție de clasa imunoglobulinei.

Analiza cristalografică cu raze X a revelat faptul că domeniile imunoglobulinelor sunt pliate într-o structură pliată caracteristică denumită ***immunoglobulin fold***. Această structură constă într-un „sandwich" din două structuri pliate β, fiecare conținând lanțuri β antiparalele de aminoacizi, conectate între ele prin bucle de diferite lungimi. Lanțurile β ale unei structuri sunt stabilizate prin legături de hidrogen care unesc grupările amino ale unui lanț cu grupările carbonil ale lanțului adiacent. Lanțurile β sunt caracterizate prin alternarea aminoacizilor hidrofili și hidrofobi, ale căror grupări laterale sunt perpendiculare pe planul structurii; aminoacizii hidrofobi sunt orientați spre interiorul sandwich-ului, iar cei hidrofili spre exterior. Cele două structuri β dintr-un fold sunt stabilizate prin interacțiuni hidrofobice reciproce, precum și prin puntea disulfurică. Deși domeniile variabile și constante prezintă în mare o structură similară, există totuși între ele câteva diferențe subtile; domeniul V este puțin mai lung decât domeniul C, conținând o pereche suplimentară de lanțuri β, precum și o buclă suplimentară care unește aceste lanțuri.

Structura de bază a *immunoglobulin fold* contribuie la structura cuaternară a imunoglobinelor, facilitând formarea de interacțiuni necovalente între domenii prin intermediul suprafețelor structurilor β. Aceste interacțiuni formează legături între domenii identice (de exemplu, C_H2/C_H2, C_H3/C_H3, C_H4/C_H4), precum și între domenii neidentice (V_H/V_L și C_H1/C_L). Structura *immunoglobulin fold* permite de asemenea o variabilitate a lungimii buclelor care conectează lanțurile β și a secvenței de aminoacizi a acestora. Unele din aceste bucle ale domeniilor VH și VL prezintă o mare variabilitate de secvență, reprezentând situsul de fixare a antigenului. Variabilitatea se definește ca numărul de aminoacizi diferiți pentru o poziție dată în molecula polipeptidică, în raport cu frecvența celui mai comun aminoacid din acea poziție. Astfel, variabilitatea moleculei de imunoglobulină este concentrată la nivelul a câteva regiuni precise și discrete din interiorul domeniilor V_H și V_L, și anume în buclelor ce conectează lanțurile β. Aceste regiuni discrete au primit denumirea de regiuni hipervariabile și ele constituie situsul de legare a antigenului la molecula de imunoglobulină, conferind totodată specificitatea unică a moleculei anticorpului.

Având în vedere că acest situs este complementar structurii epitopului de pe antigen, regiunile hipervariabile sunt astăzi denumite mai degrabă regiuni determinante ale complementarității (***complementarity determining regions – CDR***). Gama extrem de largă a specificității anticorpilor se datorează diferențelor de lungime și de secvență ale celor 6 CDR ale fiecărui fragment Fab (3 pentru domeniul V_L și trei ale domeniului V_H). Per total, o moleculă de imunoglobulină conține 12 CDR, două situsuri identice de fixare a antigenului formate fiecare din 6 CDR. Maximul de hipervariabilitate se regăsește la nivelul regiunii CDR3 a catenei grele H. Părțile nevariabile ale domeniilor V_L și V_H au rolul de a susține și poziționa regiunile CDR, ele purtând denumirea de regiuni-schelet (***framework regions – FR***). FR joacă rolul de eșafodaj pentru regiunile CDR, secvența lor și structura tridimensională fiind practic identice la toate moleculele de anticorpi. În schimb, poziționarea spațială a CDR este extrem de diversă de la o moleculă al alte, ea fiind influențată și modificată însăși de legarea antigenului.

În ceea ce privește regiunile constante ale moleculei de imunoglobulină (Figura V.4), domeniile acestora intervin în realizarea diferitelor funcții biologice, determinate de secvența în aminoacizi a fiecărui domeniu.

Domeniile C_H1 și C_L servesc la extinderea brațelor Fab permițând maxima rotație a acestora și facilitând astfel interacțiunea moleculei cu antigenul. În plus, aceste domenii ale regiunii constante ajută la menținerea împreună a domeniilor V_H și V_L, prin intermediul punții disulfurice intercatenare existente între C_H1 și C_L. De asemenea domeniile C_H1 și C_L contribuie la generarea diversității anticorpilor, permițând mai multe asocieri aleatoare între domeniile V_H și V_L decât ar permite simpla interacțiune V_H/V_L, generând astfel un repertoriu mai variat de situsuri de legare a antigenului.

Catenele grele γ, δ și α conțin o secvență peptidică suplimentară între domeniile C_H1 și C_H2, regiune ce nu prezintă nici o omologie cu celelalte domenii și care este denumită regiune balama (***hinge region***). Bogată în prolină și cisteină, această parte a moleculei este deosebit de flexibilă, conferind imunoglobulinelor IgG, IgD și IgA flexibilitatea segmentală necesară brațelor moleculei pentru a interacționa cu antigenul. Aminoacizii esențiali ai regiunii balama sunt prolina și cisteina. Numărul mare de reziduuri prolină generează o conformație peptidică extinsă, deosebit de vulnerabilă clivării de către enzime proteolitice; în această regiune acționează hidrolitic papaina ori pepsina. În ceea ce privește reziduurile cisteină, ele formează punți disulfurice care au rolul de a menține cele două catene grele împreună. Numărul punților disulfurice în regiunea balama variază considerabil între diferite clase de imunoglobuline și între specii. Deși catenele μ și ε nu posedă efectiv o regiune balama, ele prezintă un domeniu suplimentar de 110 aminoacizi (C_H2/C_H2) cu caracteristici asemănătoare regiunii balama, dar

ale cărui funcţii precise nu au fost încă determinate.. Organizarea domeniilor celor 5 clase de imunoglobuline poate fi rezumată astfel:

IgA, IgD, IgG	C_H1/C_H1	Regiune balama	C_H2/C_H2	C_H3/C_H3
IgE, IgM	C_H1/C_H1	C_H2/C_H2	C_H3/C_H3	C_H4/C_H4

Cele două domenii C_H2 în cazul IgG, IgD şi IgA (C_H3 pentru IgM şi IgE) sunt separate între ele prin catene laterale oligozaharidice; astfel cele două domenii globulare sunt mult mai accesibile decât celelalte pentru mediul înconjurător apos. Accesibilitatea este unul din elementele care contribuie la activitatea biologică a acestor domenii, în cazul activării componentelor complementului de către IgM şi IgG.

Domeniile carboxil-terminale sunt desemnate ca C_H3/C_H3 la IgG, IgD şi IgA, şi ca C_H4/C_H4 la IgM şi IgE. Cele cinci clase de imunoglobuline cu subclasele respective pot fi exprimate de către un limfocit B fie sub formă de imunoglobuline secretate (**sIg**), fie ca imunoglobuline membranare (**mIg**). Domeniul carboxi-terminal al imunoglobulinei secretate diferă ca structură şi ca funcţii de domeniul corespunzător al imunoglobulinei membranare. Astfel, imunoglobulina secretată prezintă la capătul C-terminal o secvenţă de aminoacizi hidrofilă de diferite dimensiuni şi cu variate funcţii. La imunoglobulina membranară, domeniul C-terminal este format din trei regiuni distincte:

- O secvenţă hidrofilă extracelulară, cu rol de distanţier (*spacer*), de 26 de aminoacizi;
- O secvenţă hidrofobă transmembranară, a cărei lungime este constantă între diferite clase de imunoglobuline;
- O scurtă coadă intracitoplasmatică.

Deşi un limfocit B matur activat poate exprima mai multe clase de imunoglobuline simultan, deşi pe de altă parte fiecare din aceste clase pot fi simultan exprimate sub formă membranară sau secretată, trebuie precizat faptul că specificitatea antigenică a tuturor moleculelor exprimate de către o singură celulă este aceeaşi; cu alte cuvinte, pot coexista exprimate de către aceeaşi celulă imunoglobuline prezentând aceeaşi regiune variabilă, însă regiuni constante (şi deci clase) diferite.

Funcțiile efectoare ale imunoglobulinelor

Pe lângă importanta capacitate de a lega antigenul, moleculele de imunoglobuline intervin într-o gamă largă de alte activități biologice. Atunci când considerăm rolul anticorpilor în apărarea împotriva bolii, trebuie avut în vedere faptul că în general anticorpii nu omoară sau elimină patogenii doar prin simpla legare la aceştia. Pentru a fi eficiente împotriva patogenilor, moleculele de imunoglobuline trebuie nu numai să le recunoască, dar să şi inducă un răspuns – printr-o funcție efectoare – care să aibă drept rezultat omorârea patogenului şi eliminarea antigenului. În timp ce domeniile variabile sunt singurele responsabile de recunoaşterea şi fixarea antigenelor, regiunea constantă a catenei grele (C_H) este responsabilă de o varietate de interacțiuni cu alte proteine, celule şi țesuturi, care se concretizează în funcții efectoare ale răspunsului umoral. Deoarece aceste funcții rezultă din interacțiunea regiunii CH cu alte proteine serice sau cu receptori membranari, nu toate clasele de imunoglobuline vor avea aceleaşi proprietăți funcționale. Există per ansamblu patru funcții majore îndeplinite de imunoglobuline.

Promovarea opsonizării

Opsonizarea este procesul prin care un patogen este marcat într-un fel sau altul în scopul ingestiei şi a distrugerii sale de către fagocite. Opsonizarea implică legarea de patogen a unei substanțe numite opsonină (în cazul nostru molecula de imunoglobulină), care face antigenul vulnerabil procesului de fagocitoză prin fixarea la receptorii pentru opsonină (în cazul nostru receptorii pentru Fc – FcR) de pe suprafața fagocitelor (în special macrofage şi neutrofile).

Opsonizarea reprezintă un factor important al apărării antibacteriene. Legarea FcR de pe membrana fagocitelor la mai multe molecule de anticorpi complexate cu aceeaşi țintă (cum ar fi o celulă bacteriană) provoacă legarea patogenului la membrana fagocitului; molecula de imunoglobulină serveşte astfel de intermediar proteic. Legarea a numeroase Fc la receptorii FcR inițiază o cale de transducere a semnalului, ceea ce duce la fagocitoza întregului complex antigen-anticorp. În interiorul fagocitului, patogenul devine ținta a numeroase procese di distructive incluzând digestie enzimatică, alterări oxidative, sau efectele peptidelor antimicrobiene de distrugere a membranelor.

Activarea complementului

Moleculele de IgM şi cele mai multe subclase de IgG pot activa o colecţie de glicoproteine serice ce alcătuiesc sistemul complement. Complementul include o serie de proteine ce pot perfora membranele celulare. Un important produs intermediar al activării complementului este un fragment proteic numit C3b, care are rolul de a se fixa nespecific la complexe anticorp-celulă sau anticorp-antigen, în apropierea situsului de activare a complementului. Mai multe tipuri de celule, ca de exemplu eritrocitele şi macrofagele, posedă receptori pentru C3b, fixând astfel complexele la care C3b a aderat anterior. Fixarea C3b aderent la macrofage potenţează fagocitoza celulelor sau complexelor moleculare ataşate la C3b; în acest caz, C3b joacă un rol de opsonină. Legarea complexelor antigen-anticorp la membrana eritrocitelor permite transportul acestor complexe în ficat sau în splină, unde macrofagele rezidente îndepărtează complexele fără a afecta integritatea globulelor roşii. Această colaborare dintre anticorpi şi sistemul complement este deosebit de importantă pentru inactivarea şi eliminarea antigenelor, sau pentru omorârea patogenilor.

Citotoxicitatea mediată celular dependentă de anticorpi

Atunci când molecula de imunoglobulină a recunoscut şi fixat o celulă ţintă, ca de exemplu o celulă a gazdei infectată viral, legarea sa prin porţiunea moleculară Fc la receptorii FcR de pe suprafaţa unor celule precum celulele NK sau T citotoxice declanşează o activitate citotoxică a celulei efectoare împotriva celulei ţintă. În acest proces de apărare, denumit citotoxicitatea mediată celular dependentă de anticorpi (***Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity – ADCC***), imunoglobulina acţionează ca un receptor proaspăt achiziţionat, permiţând celulei atacante să recunoască şi să ucidă celula ţintă.

Traversarea straturilor epiteliale prin transcitoză

Distribuţia anticorpilor la nivelul mucoaselor tracturilor respirator, gastrointestinal şi urogenital, precum şi exportarea lor în laptele matern, necesită mişcări ale imunoglobulinelor prin straturile epiteliale, proces ce poartă numele de **transcitoză**. Capacitatea de a fi transportată depinde de proprietăţile regiunii constante a moleculei. IgA este anticorpul ce efectuează majoritar asemenea transcitoză, deşi IgM poate de asemenea să fie transportat la suprafaţa mucoaselor. Cantităţi semnificative din majoritatea subclaselor de IgG pot fi transferate de la mamă către făt. De vreme ce sistemele circulatorii matern şi fetal sunt separate, imunoglobulinele trebuie să fie transportate prin ţesutul placentar ce separă mama de

făt, proces care are loc în timpul celui de-al treilea trimestru de gestație. Consecința deosebit de importantă a acestui fenomen este aceea că fătul în dezvoltare primește un eșantion din repertoriul imunoglobulinic al mamei, ca o primă dotare protectoare împotriva patogenilor. Ca și în cazul celorlalte funcții amintite mai sus, și capacitatea de a suporta transport transplacentar depinde de proprietățile regiunii constante a moleculei anticorpului.

Transferul IgG de la mamă spre făt reprezintă o formă de imunizare pasivă, adică o achiziție de imunitate prin primirea de anticorpi preformați, mai degrabă decât prin producerea activă de anticorpi în urma expunerii la antigen. Această capacitate de a transfera imunitate de la un individ la altul prin transferul de anticorpi este baza terapiei pasive cu anticorpi, o practică medicală importantă și larg practicată.

Clasele de imunoglobuline și activitățile lor biologice

Diferitele izotipuri și clase de imunoglobuline au fost deja menționate mai sus. Fiecare clasă se distinge de celelalte prin secvențe unice de aminoacizi în regiunea constantă a catenei variabile (C_H), care îi conferă proprietăți structurale și funcționale specifice.

Imunoglobulina G (IgG), cea mai abundentă clasă la nivelul serului, constituie aproximativ 80 % din totalul imunoglobulinelor serice. Molecula IgG este formată din două catene grele γ și din două catene ușoare λ sau κ. În organismul uman, există patru subclase de IgG, ce se diferențiază la nivelul secvenței catenei γ, și care sunt numerotate descrescător în funcție de concentrațiile serice respective: IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4.

Secvențele de aminoacizi care disting cele patru subclase de IgG sunt codate de gene C_H diferite, ale căror secvențe ADN prezintă 90-95 % omologie.

Caracteristicile structurale ce disting subclasele între ele sunt dimensiunea regiunii balama pe de o parte, și numărul și poziția punților disulfurice între catenele grele, pe de altă parte. Aceste diferențe subtile de aminoacizi între subclasele de IgG afectează activitățile biologice ale moleculelor:

- IgG1, IgG3 și IgG4 traversează ușor placenta și joacă un rol important în protejarea fătului în dezvoltare;
- IgG3 este cel mai eficient activator al complementului, urmat de IgG1; IgG2 este mai puțin eficient, iar IgG4 nu este capabil să activeze sistemul complement;

- IgG1 şi IgG3 leagă cu mare afinitate receptorii Fc de pe suprafaţa fagocitelor, mediind astfel opsonizarea; IgG4 are o afinitate intermediară pentru FcR, iar IgG2 o afinitate extrem de joasă.

Imunoglobulina M (IgM) reprezintă aproximativ 5-10 % din totalul imunoglobulinelor serice, cu o concentraţie medie la nivelul serului de 1,5 mg/ml. IgM monomeric, cu o masă moleculară de 180 kDa, este exprimat ca imunoglobulină membranară pe limfocitele B.

IgM este secretat de către plasmocite sub forma unui pentamer în care 5 unităţi monomerice sunt ţinute împreună prin punţi disulfurice ce unesc domeniile C-terminale Cμ3/Cμ3 şi Cμ4/Cμ4. Cele 5 unităţi monomerice sunt aşezate cu regiunile Fc în centrul pentamerului şi cu cele 10 situsuri de legare a antigenului spre exterior, la periferia moleculei. Fiecare pentamer conţine un peptid adiţional asociat regiunii Fc şi denumit catena de legătură J (joining), care este legat prin punţi disulfurice la reziduuri cisteină C-terminale ale două din cel 10 catene μ. Catena J este necesară pentru polimerizarea monomerilor şi formarea pentamerului IgM; ea este adăugată cu puţin înaintea secreţiei pentamerului.

IgM este prima clasă de imunoglobuline produsă în răspunsul primar la un antigen, fiind de asemenea şi prima imunoglobulină sintetizată de nou născut. Datorită structurii sale pentamerice cu 10 situsuri de legare a antigenului, IgM seric posedă o valenţă superioară celorlalte izotipuri. Totuşi, în cazul antigenelor de talie mare, doar 5 sau mai puţine molecule vor fi legate simultan la IgM. Valenţa mare permite IgM să recunoască şi să fixeze cu eficienţă crescută antigene cu epitopi multipli repetitivi, aşa cum sunt particulele virale sau eritrocitele. Este nevoie de 1000 de ori mai multe molecule de IgG decât de IgM pentru a aglutina specific eritrocite, acelaşi raport fiind valabil şi în cazul particulelor virale.

De asemenea, IgM este mai eficient decât IgG în activarea complementului. Activarea sistemului complement pe cale clasică necesită două regiuni Fc în imediată proximitate, iar structura pentamerică a moleculei IgM oferă contextul molecular necesar.

Datorită dimensiunilor mari, moleculele de IgM nu difuzează bine şi de aceea se găsesc în concentraţii foarte reduse în fluidele tisulare intercelulare. Prezenţa catenei J permite IgM să lege receptorii celulelor secretorii şi să fie astfel transportată de-a lungul epiteliului până la nivelul secreţiilor externe ale mucoaselor de suprafaţă epitelială. Deşi imunoglobulina majoritară ce se găseşte în astfel de secreţii este IgA, IgM joacă un important rol accesoriu ca imunoglobulină secretorie.

Imunoglobulina A (IgA) reprezintă doar 10-15 % din totalul imunoglobulinelor serice, însă este imunoglobulina predominantă în secrețiile externe precum laptele matern, salivă, lacrimi, și în mucoasele tracturilor bronșic, digestiv și urogenital.

În ser, IgA există preponderent sub formă de monomer, însă pot fi observate forme polimerice (dimeri, trimeri și uneori tetrameri), toate conținând o catenă polipeptidică J.
IgA din secrețiile externe, denumite și IgA secretorii, există sub formă dimerică sau tetramerică, conținând o catenă polipeptidică J, precum și o catenă polipeptidică denumită componentă secretorie. Componenta secretorie este derivată din receptorul responsabil de transportul polimerului IgA prin membranele celulare. Catena polipeptidică J a IgA este identică celei din pentamerul IgM, funcția sa fiind similară, de facilitare a polimerizării IgA secretorii și membranare. Componenta secretorie este un polipeptid cu masa moleculară de 70 kDa, produs de către celulele epiteliale ale membranelor mucoase. Ea este formată din cinci domenii de tip imunoglobulinic (*immunoglobulin-like*), care leagă regiunea Fc a dimerului IgA. Această interacțiune este stabilizată printr-o legătură disulfurică între cel de-al 5-lea domeniu al componentei secretorii și una din catenele dimerului IgA.

Producția zilnică de IgA secretată este mai mare decât cea a oricărei alte clase de imunoglobuline. Plasmocitele secretoare de IgA sunt concentrate de-a lungul suprafețelor mucoaselor membranare. Spre exemplu, de-a lungul jejunului intestinului subțire există mai mult de 2,5 X 10^{10} plasmocite secretoare de IgA, număr ce depășește populația totală de plasmocite din măduva hematopoietică, ganglioni limfatici și splină la un loc. În fiecare zi, un individ secretă 5-15 g de IgA prin secrețiile mucoaselor. Plasmocitul producător de IgA migrează preferențial pentru a se stabili în țesutul subepitelial, unde IgA secretată se fixează la un receptor pentru moleculele polimerice de imunoglobuline (receptor poli-Ig), exprimat pe suprafața bazolaterală a celor mai multe epitelii mucoase (de exemplu de-a lungul tracturilor digestiv, respirator și genital), precum și pe epiteliile glandulare ale glandelor mamare, salivare și lacrimale. După ce IgA polimeric se fixează la receptorul poli-Ig, complexul receptor-IgA este transportat prin bariera epitelială spre lumen, printr-un mecanism de endocitoză mediată de receptor. Receptorul poli-Ig va fi clivat enzimatic, fiind eliberat împreună cu IgA în secrețiile mucoasei. Componenta secretorie maschează situsurile de clivare proteolitică din regiunea balama, ceea ce permite moleculei polimerice o durată de viață mai lungă într-un mediu al mucoaselor bogat în proteaze. IgM este de asemenea transportată la nivelul mucoaselor prin acest mecanism, însă cantitatea este mult inferioară celei de IgA în secrețiile acestor mucoase.

IgA secretată deține importante funcții efectoare la nivelul suprafețelor mucoase membranare, situsuri principale de pătrundere în organism a majorității patogenilor. Datorită faptului că este polimerică, IgA secretată poate fixa antigene mari cu epitopi multipli. Legarea IgA la suprafața virală sau bacteriană împiedică fixarea acestor patogeni pe celulele mucoaselor, inhibând astfel infecțiile virale și colonizările bacteriene. Complexele IgA secretat – antigen sunt cu ușurință captate în mucus și eliminate ulterior de către celulele epiteliale ciliate ale tractului respirator sau prin mișcările peristaltice ale intestinului. Astfel, IgA secretate s-au dovedit a reprezenta o importantă linie de apărare împotriva unor bacterii precum *Samonella*, *Vibrio cholerae*, *Neisseria gonorrheae*, sau virusuri precum polio, influenza sau reovirus.

Laptele matern conține IgA secretate, precum și multe alte molecule cu rol în protecția nou-născutului împotriva infecțiilor în primele luni de viață. Deoarece sistemul imun al copiilor nu este pe deplin funcțional, alăptarea la sân joacă un rol deosebit de important în menținerea sănătății noi-născuților.

Imunoglobulina E (IgE) prezintă o activitate biologică extrem de puternică, ceea ce a permis identificarea sa la nivelul serului, în ciuda concentrației sale serice extrem de reduse (0,3 μg/ml). Anticorpii IgE mediază reacțiile de hipersensibilitate imediată responsabile de febra fânului (rinită alergică), astmă, urticarie și șocul anafilactic. Prezența unei componente serice responsabile de reacțiile alergice a fost pentru prima oară demonstrată în 1921 de K. Prausnitz și H. Kustner, care au injectat intra-dermal ser provenind de la o persoană alergică la un individ nealergic. Când antigenul corespunzător a fost ulterior injectat în același loc, au apărut pustule și umflături analoage urticariei. Această reacție, denumită reacție P-K după descoperitorii ei, a fost baza primului experiment biologic al activității IgE. Identificarea efectivă a IgE a fost realizată în 1966 de către K și T Ishizaka. Aceștia au obținut ser de la un individ alergic, cu care au imunizat iepuri în scopul de a dezvolta anticorpi serici anti-izotip. Antiserul iepurelui a fost ulterior pus în reacție cu fiecare clasă de imunoglobuline cunoscută la acea vreme (IgG, IgA, IgM și IgD). Astfel, fiecare dintre anticorpii anti-izotip au fost precipitați și eliminați din ser, ceea ce a rămas fiind un anticorp anti-izotip specific pentru o clasă încă nedeterminată de imunoglobuline. Acest anticorp, care blochează complet reacția P-K, a fost denumit IgE (după antigenul E din polenul plantei de rugină, inductor al IgE).

IgE se leagă la receptorii Fc de pe membrana bazofilelor circulante și a mastocitelor tisulare. Fixarea antigenului (alergenului) la IgE legate de receptor induce translocarea granulelor bazofilelor și mastocitelor spre membrana plasmatică și eliberarea conținutului

granular în spațiul extracelular, proces denumit degranulare. Prin acest fenomen, o seamă de mediatori farmacologic activi sunt eliberați dând naștere la manifestări alergice. Degranularea mastocitelor localizate, indusă de către IgE, poate de asemenea elibera mediatori ce facilitează acumularea de celule variate necesare în apărarea antiparazitică.

Imunoglobulina D (IgD) a fost pentru prima oară descoperită la un pacient cu mielom multiplu ale cărui proteine de mielom nu interacționau cu antiser anti-izotip împotriva claselor de imunoglobuline cunoscute la acea vreme (IgG, IgA, IgM). Atunci când șoarecii au fost imunizați cu respectiva proteină de mielom, antiserul rezultat a fost utilizat pentru identificarea aceleiași clase de anticorpi, în cantități foarte mici în serul normal. Noua clasă de imunoglobuline, denumită IgD, are o concentrație serică de 30 μg/ml și constituie aproximativ 0,2 % din totalitatea imunoglobulinelor serice. Împreună cu IgM, IgD este imunoglobulina majoritară exprimată membranar pe suprafața celulelor B mature, iar rolul său în fiziologia limfocitelor B este investigat și la ora actuală. Până acum nu a fost identificată nici o funcție biologică efectoare asociată IgD.

Imunodeficiențele

Imunodeficiențele, care afectează deopotrivă producția de anticorpi (imunitatea umorală) sau imunitatea mediată celular, sunt subdivizate în două grupuri comune – primare și secundare. Maladiile asociate imunodeficiențelor primare sunt defecte ce apar în mod natural și măresc susceptibilitatea la infecții. Deficiențele constituie un spectru de peste 80 de defecte înnăscute deferite ale sistemului imun. Incidența globală a tuturor acestor imunodeficiențe este estimată la aproximativ 1 la 10.000, dacă excludem deficiențele selective de IgA. Imunodeficiențele comune primare includ defecte ale imunității anticorpilor afectând diferențierea limfocitelor B sau/și producerea anticorpilor, anormalități izolate ale limfocitelor T, defecte combinate ale celulelor B și T, dereglări ale fagocitozei și deficiențe ale complementului. Majoritatea defectelor imune implică producția de anticorpi; aceste deficiențe sunt regăsite mai adesea la adulți decât la copii.

Sistemul imun poate fi de asemenea afectat secundar de o varietate de condiții, precum malnutriția, malignitatea, maladii metabolice, infecții, medicamente imunosupresive sau radiații. Deficiențele anticorpilor trebuie excluse la pacienții ce prezintă infecții recurente,

severe sau piogenice neobişnuite. Cele mai comune situsuri de infecţie sunt tracturile respiratorii superior şi inferior, cele mai comune infecţii fiind cauzate de patogeni bacterieni încapsulaţi precum *Streptococcus pneumoniae* sau *Haemophilus influenzae*.

Unii pacienţi dezvoltă de asemenea diaree sau malabsorbţie datorită creşterii excesive bacteriene în intestinul subţire, sau infecţii cronice cu *Giardia*, *Campylobacter* sau *Cryptosporidium*.

Evaluarea diagnostică a imunităţii umorale

Este una din cele mai frecvente probleme cu care se confruntă clinicienii este investigarea unei posibile imunodeficienţe. Atenţia medicilor este adesea trezită de pacienţii care se prezintă cu un istoric de infecţii repetate care pot scădea după tratament antibiotic adecvat, însă care revin la scurtă vreme de la întreruperea tratamentului. Natura infecţiei poate furniza câteva indicaţii preliminare cu privire la sursa deficienţei, în sensul localizării ei la nivelul imunităţii umorale sau a celei mediate celular. Atunci când este suspicionată o imunodeficienţă umorală, se obişnuieşte să se înceapă cu procedurile cele mai simple, efectuând teste mai sensibile şi complexe în funcţie de nevoi.

Cuantificarea imunoglobulinelor

Nivelul seric al imunoglobulinelor este testul de screening efectuat cel mai frecvent pentru imunitatea umorală. De obicei, este suficientă măsurarea celor trei clase majore de imunoglobuline, IgG, IgA şi IgM, de vreme ce nu există nici o dovadă a faptului că deficienţe ale IgD sau IgE ar avea oarecare consecinţe patologice. În interpretare concentraţiilor de imunoglobuline la copii, trebuie însă avut permanent în vedere faptul că valorile normale variază cu vârsta, aşa cum se poate observa în tabelul V.4.

Tabelul V.4. Intervale estimate pentru nivelul normal al imunoglobulinelor serice

	3 luni	**1 an**	**5 ani**	**10 ani**	**Adult**
IgG (mg / dl)	140-650	250-1100	515-1450	770-1650	560-1770
IgA (mg / dl)	1-45	10-100	25-200	40-360	40-390
IgM (mg / dl)	20-120	25-160	40-200	40-250	60-360
IgE (UI / ml)	< 15,0	< 60,0	< 90,0	< 200,0	< 100,0

Imunodeficiențele umorale pot fi clasate în funcție de nivelul imunoglobulinelor. O scădere cantitativă a uneia sau mai multora din cele 3 clase majore de imunoglobuline este considerată compatibilă cu un diagnostic de imunodeficiență umorală.

Atunci când toate izotipurile de imunoglobuline sunt scăzute, situația este desemnată ca o hipogamaglobulinemie. Dacă scăderea este foarte severă, iar nivelul combinat al celor trei imunoglobuline se situează sub 200 mg/dl, pacientul este considerat a suferi de o hipogamaglobulinemie severă sau agamaglobulinemie. Dacă doar una sau două clase de imunoglobuline au concentrații scăzute, situația este denumită disgamaglobulinemie.

Hipogamaglobulinemia este adesea identificată în asociere cu imunodeficiențe secundare, spre exemplu la pacienții cu discrazie plasmocitară, sindrom nefrotic, malabsorbție intestinală sau imunosupresie pe termen lung. În contrast, agamablobulinemia este de obicei observată în cazurile de imunodeficiență primară. Sunt foarte rare cazurile în care un individ cu agamablobulinemie este asimptomatic.

În rândul disgamaglobulinemiilor, de departe cea mai frecventă este deficiența de IgA, care este de altfel și forma cea mai frecventă de deficiență imunitară. O altă formă relativ frecventă de disgamaglobulinemie este caracterizată printr-o deficiență combinată de IgG și de IgA, cu concentrații crescute de IgM (sindromul hiper-IgM). Această situație arată incapacitatea pacientului de a realiza comutarea de clasă de la IgM către sinteza de IgA sau IgG, datorită absenței semnalelor provenind de la celulele T helper.

Deficiențele subclaselor de IgG se caracterizează printr-o concentrație totală a IgG normală sau puțin scăzută, asociată cu depresia uneia sau a două subclase minore. O atenție particulară a fost acordată deficienței subclasei IgG2, care ar putea fi asociată infecțiilor bacteriene cu capsule polizaharidice. Deficiențele combinate de IgG2 și IgA sunt relativ frecvente, iar indivizii cu astfel de deficiențe sunt cel mai adesea simptomatici, suferind de infecții bacteriene.

Determinarea anticorpilor comuni

Se întâmplă uneori ca testul imunoglobulinelor serice să nu conducă la un diagnostic clinic de imunodeficiență umorală. Următoarea etapă ar putea fi dozarea anticorpilor care se găsesc la cea mai mare parte a indivizilor normali sănătoși, fie ca rezultat al expunerii prealabile la un antigen, fie ca rezultat al vaccinării:

- titrarea anticorpilor anti-A și anti-B izohemaglutininelor;
- titrarea anticorpilor anti-streptolizina O;
- dozarea concentrației anticorpilor împotriva toxoidului tetanic;

- dozarea concentrației anticorpilor împotriva polizaharidelor de *Haemophilus influenzae*;
- titrarea anticorpilor împotriva unor virusuri comune (oreion, pojar, poliomelită).

Nivelul anormal de scăzut al unuia sau a mai multor din aceste imunoglobuline confirmă diagnosticul de imunodeficiență umorală, expunerea la antigenul respectiv fiind practic sigură.

Determinarea anticorpilor împotriva organismelor și agenților patogeni comuni utilizați în imunizarea de rutină este în primul rând un indicator al imunoreactivității din trecut; aceste rezultate pot să nu furnizeze informații utile în cazul în care deficiența este mai subtilă sau dacă ea este de origine recentă, prima funcție pierdută în cazul imunodeficienței fiind abilitatea de a dezvolta un răspuns imun primar.

Determinarea anticorpilor împotriva unor agenți infecțioși cunoscuți

Nevoia de a identifica agenții etiologici la pacienții cu infecții neobișnuite și recurente este deosebit de importantă. Pe lângă faptul de a furniza tratamente deosebit de utile prin selecția celui mai adecvat medicament antimicrobian, identificarea acestor agenți permite stabilirea testul cel mai informativ pentru diagnosticarea imunodeficienței umorale. Astfel, dacă organismul pacientului nu produce anticorpi, diagnosticul este evident. La unii pacienți, toate investigațiile ar putea fi neconcludente, cu excepția dozării anticorpilor împotriva microorganismului infectant, ceea ce ar putea releva o imunodeficiență „antigen-selectivă". Din nefericire, astfel de teste microbiologice caracteristice sunt efectuate extrem de rar la pacienții suspicionați de imunodeficiență umorală, iar teste adecvate pentru anticorpi dirijați împotriva unor organisme comune (de exemplu, stafilococi) nu sunt disponibile în mod curent.

Cuantificarea imunoglobulinelor după întâlnirea cu antigenul

Aceasta este abordarea ideală pentru investigarea răspunsului imun umoral, deoarece ea determină în mod foarte specific abilitatea pacientului de a furniza un răspuns funcțional adecvat în anticorpi după întâlnirea cu antigenul corespunzător. Investigația poate fi efectuată din două perspective diferite: fie pentru a determina dacă pacientul este capabil de a dezvolta un răspuns imun, fie pentru a determina dacă pacientul poate sintetiza anticorpi împotriva unui microorganism infectant specific. Antigenele alese pentru acest tip de investigație trebuie să respecte o seamă de criterii, precum lipsa de risc pentru pacient, disponibilitate a tehnicilor pentru dozarea anticorpilor corespunzători, caracter adecvat al antigenului pentru scopul urmărit.

Pentru evaluarea responsivității imune primare, trebuie utilizat un antigen la care individul nu a mai fost niciodată supus în prealabil. La copiii imunodeficienți, pentru care sunt disponibile suficiente informații privitoare la imunizările și infecțiile precedente, poate fi utilizată ca antigen orice componentă a vaccinului sau microorganismul omorât (niciodată viu atenuat !) la care nu a existat expunere prealabilă. Pot fi utilizate de asemenea proteine provenind de la animale inferioare, precum hemocianina din *Diodora apertur*. Cu toate acestea, este foarte dificil de exclus posibilitatea unei expuneri prealabile la un imunogen prin reactivitate încrucișată, ceea ce ar conduce la doze detectabile de anticorpi "naturali" înaintea imunizării. Cea mai bună abordare imaginată până în prezent este imunizarea cu bacteriofagul ΦX174. Atât evoluția nivelului anticorpilor, cât și eliminarea fagului infectant (eliminare întârziată la pacienții imunodeficienți), pot fi urmărite prin tehnici foarte sensibile pentru a determina dacă există o sinteză de anticorpi și dacă există sau nu o eliminare imună efectivă a bacteriofagilor. Imunizarea prin fagi a fost realizată de mai multe echipe medicale în diferite țări, dovedindu-se a fi o procedură inofensivă pentru pacient. La ora actuală, principala problemă care împiedică utilizarea pe scară largă a acestei tehnici este dificultatea metodelor de inactivare a fagilor.

Evaluarea responsivității imune secundare nu ridică tot atât de multe probleme, însă este mai puțin informativă, de vreme ce capacitatea de a iniția un răspuns imun primar pare a fi prima (și câteodată singura) funcție afectată, fie de către agenții imunosupresori, fie de boli asociate cu imunodepresia. Toxoidul difteric și toxoidul tetanic sunt cele mai frecvent utilizate și, deoarece sunt proteine puternic imunogene, folosirea lor prezintă doar riscuri minimale pentru pacient, anticorpii specifici putând fi testați printr-o varietate de tehnici precum ELISA. Dată fiind lipsa de informații cu privire la valorile normale ale concentrațiilor acestor anticorpi, precum și faptul că anormalitatea căutată rezidă în lipsa unui răspuns activ mai degrabă decât într-un nivel scăzut de anticorpi, cea mai bună abordare este recoltarea sângelui pentru valori de referință înainte de imunizarea cu antigen, urmată de repetarea recoltării după 2-3 săptămâni. În evaluarea unui pacient suspicionat de imunodeficiență trebuie avută în vedere și existența unor non-responsivi normali.

Imunizarea cu vaccinuri polizaharidice (precum cele pe bază de *Haemophilus influenzae* sau *Streptococcus pneumoniae*) este indicată nu numai atunci când sunt predominant implicate aceste microorganisme, dar și în cazul unei deficiențe a subclasei IgG2, în care pacienții adesea prezintă răspunsuri foarte slabe la polizaharide.

Deficiențele Imunoglobulinei A (IgA)

Frecvența estimată a deficiențelor în IgA variază în funcție de criteriile utilizate pentru definirea deficienței, precum şi de sensibilitatea metodologiei utilizate. Astfel, dacă deficiența de IgA este definită ca absența totală de IgA, iar metodele de testare sunt foarte sensibile, puțini indivizi vor fi diagnosticați cu deficiență IgA.

În scopuri practice, deficiența în IgA trebuie considerată la acele cazuri cu concentrații de IgA foarte mici în comparație cu indivizi normali de aceeaşi vârstă, concentrații măsurate prin metode de rutină de investigare a imunoglobulinelor (de exemplu, imunodifuzia sau imunonefelometria), cu înțelegerea faptului că doar o mică proporție din aceste cazuri vor prezenta o lipsă absolută de IgA.

Deficiența de IgA se defineşte ca o concentrație serică IgA mai mică de 7 mg/dl, cu nivele serice normale de IgG şi IgM (Tabelul V.5). Pe baza acestor criterii, frecvența deficiențelor de IgA variază între 1/500 şi 1/800 de indivizi. Ambele subclase de IgA, IgA1 şi IgA2, sunt de obicei considerabil reduse sau absente, deşi au fost descrise şi cazuri de deficiențe izolate ale unei singure subclase. În general, deficiența de IgA2 conduce la infecții mult mai serioase decât IgA1, datorită susceptibilității proteazice mai mari a moleculei de IgA1.

Cel puțin 50 % din indivizii cu deficiență selectivă de IgA sunt asimptomatici din punct de vedere clinic. Pacienții deficienți IgA prezintă de obicei infecții sino-pulmonare, afecțiuni ale tractului gastrointestinal cu giardiază, sau hiperplazia ganglionilor limfatici. Deficiențele de IgA au fost asociate de asemenea cu o frecvență mărită a dezordinilor autoimune, incluzând artrita, maladii asemănătoare cu lupus (*lupus-like*), endocrinopatii autoimune, hepatită cronică activă, colită ulcerativă, boala Crohn, boli celiace de tip sprue, defecte hematologice autoimune. Deficiența selectivă de IgA este de asemenea puternic asociată cu atopia.

Pacienții suferind de infecții recurente prezintă adesea deficiențe IgA asociate deficiențelor anumitor subclase de IgG sau altor anomalii imune precum ataxia telangiectasia. Pacienții cu deficiență IgA prezintă adesea anticorpi anti-IgA, cu specificități variabile (anti-izotipici sau anti-alotipici). Originile şi rolul acestor anticorpi sunt controversate. Prezența lor în ser se traduce prin legarea rapidă şi eliminarea IgA exogene şi endogene, astfel că anticorpii anti IgA perpetuează deficiența de IgA. O altă consecință a existenței acestor anticorpi ar putea fi o reacție severă după transfuziile sanguine sau după administrarea de

preparate gamaglobulinice. De obicei, reacţiile severe apar doar atunci când concentraţiile de anticorpi sunt crescute (mai mari de 80, măsurate prin hemaglutinare pasivă).

Ocurenţa deficienţelor IgA atât la pacienţi bărbaţi cât şi la femei, precum şi aglomerarea sa la nivelul familiilor, sugerează o transmitere autosomală. Patogeneza deficienţelor în IgA este încă necunoscută, deşi au fost studiate anumite anomalii în comutarea de clasă a imunoglobulinelor sau ale citokinelor implicate în comutarea de izotip. În fine, patogeneza deficienţelor în IgA ar putea avea o cauză comună cu imunodeficienţele variabile comune, aceste două defecte având mai multe aspecte imunologice în comun.

Tabelul V.5. Concentraţiile comune ale imunoglobulinelor în imunodeficienţe
(N = valori normale ; ↑ = creşterea concentraţiei ; ↓ = scăderea concentraţiei)

MALADIA	IgG	IgA	IgM	IgE	IgD
Deficienţă selectivă IgA	N	↓↓	N	N	
Deficienţă selectivă IgG	↓↓	N / ↓	N	N	
Deficienţă selectivă a subclaselor IgG	N / ↓	N / ↓	N / ↓	N / ↓	N / ↓
Agamaglobulinemia legată de cromozomul X	↓↓	↓↓	↓↓	N / ↑	
Sindromul Hiper-IgM	↓	↓	↑	↓	
Imunodeficienţe comune variabile	↓↓	↓↓	N / ↓	↓	
Ataxia telangiectasia	↓	↓↓	N	↓	
Sindromul Wiskott-Aldrich	N / ↑	N / ↑	↓	N / ↑	
Sindromul limfocitar BARE (deficienţă MHC)	N / ↓	↓↓	↓↓	N / ↓	
SCID (Imunodeficienţă combinată severă)	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓	

Deficienţele Imunoglobulinei G (IgG)

O deficienţă în IgG totale se traduce în general prin probleme serioase legate de infecţii. Pot însă apărea şi deficienţe ale subclaselor de IgG, caracteristici comune în numeroase sindroame de imunodeficienţă primare sau secundare. Având în vedere faptul că scăderea concentraţiei unei subclase IgG se poate acompania cu o creştere a uneia sau mai multor alte subclase, nivelul total de IgG poate rămâne în limite normale. De aceea, evaluarea subclaselor IgG este deosebit de importantă, chiar şi atunci când nivelul IgG total este în interiorul sau puţin sub intervalul de referinţă al indivizilor sănătoşi. De vreme ce IgG1 cuprinde aproape 70 % din concentraţia IgG serică totală, pacienţii cu deficienţă de IgG1 prezintă de obicei şi o diminuare a IgG totale. Există cazuri de pacienţi prezentând infecţii

sino-pulmonare recurente, cu concentraţii serice normale de IgG, IgA şi IgM, dar cu nivele reduse de IgG2 şi IgG4 (Tabelul V.5); aceşti pacienţi sunt incapabili să producă anticorpi împotriva antigenelor polizaharidice, având însă un răspuns normal de anticorpi împotriva antigenelor de natură proteică.

Deficienţele pot afecta una sau mai multe subclase de IgG, putând fi subdivizate în mai multe grupuri. Deficienţa completă a uneia sau a mai multor subclase, cauzată de deleţii la nivelul cromozomului 14, este o situaţie rară. Cele mai multe anormalităţi se bazează pe defecte de reglare cauzând concentraţii scăzute, mai degrabă decât lipsa totală a genei sau a genelor. Deficienţa de IgG2 poate apărea ca fenomen izolat, ori în asociere cu deficienţe de IgA sau IgG4. În rândul deficienţelor de subclase IgG combinate, predomină cea de tip IgG2/IgG4. Relevanţa deficenţei selective de IgG4 este incertă, de vreme ce aproximativ 15 % din populaţia generală prezintă concentraţii de IgG serice sub limita de detecţie. Interesant este faptul că genele codând pentru IgG2, IgG4 şi IgA sunt foarte apropiate, deficienţa combinată datorându-se unui defect de reglare al comutării de clasă la nivelul catenei grele. Se pare că expresia genelor situate în aval de regiunea constantă a catenei grele (C_H), precum IgG4 sau IgE, necesită un ajutor mai important din partea limfocitelor Th2 decât au nevoie izotipurile situate în amont, IgG1 şi IgG3. Deficienţele de IgG2 şi IgG4 sunt adesea asociate cu defecte predominante ale limfocitelor T, cum este cazul în ataxia telangiectasia, SIDA, sau în reconstituirea imunităţii după un transplant de măduvă hematopoietică. Este de notat faptul că pacienţii prezentând deficienţe de IgG1 sau IgG3 sunt mai susceptibili de a dezvolta infecţii cronice şi recurente ale tractului respirator inferior, în timp ce pacienţii cu deficienţe de IgG2 sau IgG4 sunt predispuşi la sinuzite şi la otite.

Deficienţele Imunoglobulinei M (IgM)

Deficienţele selective de IgM implică rearanjări corecte ale genelor în limfocitele B şi ar putea fi cauzate de o eroare a sistemului de recunoaştere a polizaharidelor. În acest caz, se poate anticipa o scădere concomitentă a nivelelor subclaselor IgG2 şi IgG4, datorită specificităţii acestora pentru antigenele bacteriene de natură polizaharidică.

Pacienţii cu sindrom de deficienţă combinat legat de X (de tip sindrom Wiskott-Aldrich) prezintă concentraţii de IgM serice scăzute sau chiar absente, cu nivele de IgG. IgA şi IgE normale sau chiar crescute (Tabelul V.5); aceşti pacienţi sunt incapabili să răspundă la antigenele polizaharidice şi prin urmare izoaglutininele sunt absente.

Deficiențele Imunoglobulinei D (IgD)

Deficiența de IgD este un defect al imunității umorale caracterizat prin concentrații serice anormal de joase (≤ 0,002 mg/ml) ale acestei imunoglobuline. Pacienții cu astfel de deficiențe prezintă maladii reumatologice (spre exemplu artrită reumatoidă juvenilă, lupus, artrită psoriazică, vasculită), însă frecvența indivizilor cu nivel scăzut de IgD în interiorul grupului fiecărei maladii nu diferă prea mult de frecvența acestora în grupuri control. Se estimează la 13 % procentul populațional al indivizilor cu IgD scăzute, însă prea puține informații sunt cunoscute cu privire la funcțiile normale ale IgD, puține semne clinice sau simptome fiind asociate cu absența acesteia. Indivizii cu niveluri serice scăzute de IgD nu prezintă predispoziții neobișnuite la infecții.

Alte imunodeficiențe primare

Imunodeficiența variabilă comună

Imunodeficiența variabilă comună (***Common variable immunodeficiency – CVID***), cunoscută și sub numele de hipogamaglobulinemia adultului, hipogamaglobulinemie sau disgamaglobulinemie dobândită, reprezintă un grup heterogen de defecte ce implică funcțiile imune ale celulelor B și T.

Vârsta medie de apariție a simptomelor este 25 de ani, vârsta medie a diagnosticului fiind 28 de ani. CVID se caracterizează prin infecții bacteriene recurente (otite recurente, sinuzite cronice, pneumonii recurente), concentrații serice scăzute ale imunoglobulinelor (în special de IgG și IgA), precum și prin răspunsuri anormale de anticorpi la imunizări specifice.

Majoritatea indivizilor cu CVID sunt panhipogamaglobulinemici, însă unii din ei produc cantități substanțiale de IgM. Deși considerabil diminuate, concentrațiile serice de imunoglobuline sunt totuși superioare celor măsurate la pacienții cu agamaglobulinemie legată de X (vezi mai jos). La aproximativ 22 % din pacienții cu CVID apar adesea dezordini autoimune: artrite reumatoide, defecte hematologice autoimune (anemie hemolitică, purpura trombocitopenică idiopatică, anemie pernicioasă), maladii autoimune neurologice (sindromul Guillain-Barré), hepatită cronică activă adesea corelată virusului hepatitei C, precum și endocrinopatii autoimune implicând în special glanda tiroidă.

Imunodeficienţa cu IgM crescute (Sindromul hiper-IgM)

În ultimii ani a fost descrisă o serie de deficienţe imune primare caracterizate printr-un defect al comutării de clasă prin recombinare şi prin inabilitatea de a produce alte imunoglobuline decât IgM şi IgD. Unele din aceste defecte sunt grupate sub denumirea de sindrom al imunodeficienţei cu IgM crescute (***hyper-IgM immunodeficiency syndrome – HIGM***).

Sindromul afectează cu precădere bărbaţii (55-65 %) şi se caracterizează prin concentraţii serice scăzute de IgG, IgA şi IgE, însoţite de concentraţii crescute de IgM, manifestându-se prin infecţii bacteriene recurente severe. Pacienţii cu sindrom HIGM pot de asemenea să dezvolte dereglări autoimune; au fost corelate maladii precum anemia hemolitică pozitivă la testul Coombs, boala intestinală inflamatorie, hepatită, artrită seronegativă, hipotiroidism, sau lupus eritematos discoid. Au fost de asemenea detectaţi diferiţi autoanticorpi serici, de tip anti-eritrocite, anti-eritropoietină, anti-trombocite, anti-muşchi netezi, anti-cardiolipină, , anti-tiroidă, etc.

HIGM de tipul 1 (HIGM1) este moştenit ca un caracter legat de X. Boala este cauzată de expresia defectuoasă a CD40 ligand, moleculă exprimată pe suprafaţa limfocitelor T_H activate. Interacţiunea CD40-CD40 ligand este esenţială pentru maturarea limfocitelor B după activarea de către antigen, şi pentru comutarea de clasă.

În HIGM1 observăm concentraţii serice scăzute de IgG şi IgA, cu IgM normale sau crescute (Tabelul V.5). Simptomele clinice ale pacienţilor cu HIGM1 sunt aproape identice cu cele ale indivizilor purtători de defecte genetice ale CD40 (moleculă exprimată constitutiv pe limfocitele B şi în general pe celulele prezentatoare de antigene), care prezintă o formă autosomală recesivă de HIGM, recent definită ca HIGM de tip 3 (HIGM3). În contrast, pacienţii cu HIGM2 prezintă un fenotip clinic distinct, caracterizat prin mărirea amigdalelor şi a ganglionilor limfatici, infecţii bacteriene recurente sino-pulmonare, însă fără o susceptibilitate crescută la patogenii oportunişti. Examinarea patologică a ganglionilor limfatici relevă existenţa unor centri germinali deosebit de mari, caracteristică ce distinge clar HIGM2 de tipurile 1 şi 3. O a patra formă de HIGM afectează bărbaţii şi este caracterizată prin asocierea hipogamaglobulinemiei cu o displazie ectodermală hipohidrotică (HIGM-ED). La fel ca şi celelalte tipuri de HIGM, HIGM-ED nu este o deficienţă pur umorală, deoarece au fost raportate şi defecte ale celulelor T sau NK.

Agamaglobulinemia legată de cromozomul X

Agamaglobulinemia legată de cromozomul X (***X-linked aggammaglobulinemia – XLA***), denumită deopotrivă agamaglobulinemia Bruton, sau agamaglobulinemia congenitală, apare cu o frecvență de 1 la 3-6 milioane de persoane.

Elementele tipice identificate în XLA sunt absența totală sau deficiența marcată de imunoglobuline serice (Tabelul V.5), procentajul extrem de scăzut (< 2 %) sau absența limfocitelor B, precum și numărul normal sau chiar crescut de precursori pro-B în măduva hematopoietică din cauza blocării maturării lor. Tractul respirator superior este cel mai comun situs de infecție, alte tipuri de infecții incluzând pioderma, conjunctivita cronică, gastroenterite, artrite și meningite-encefalite. Bacteriile încapsulate, în particular *H. influenzae* și *S. pneumoniae*, sunt de regulă asociate acestor infecții. La pacienții cu XLA mai pot apărea artrite și sindroame de tip dermatomiozite, cu toate că dezordinile autoimune nu par a reprezenta o problemă frecventă la acești pacienți.

Hipergamaglobulinemii

Concentrațiile crescute ale imunoglobulinelor serice pot fi consecința unei inhibări a sintezei sau a unui catabolism încetinit. În mod distinct, hipergamaglobulinemia își poate avea originea în procese patologice sau fiziologice de natură monoclonală, policlonală, sau oligoclonală. Spre exemplu, creșterea monoclonală a imunoglobulinelor rezultă de obicei dintr-o proliferare malignă sau pre-malignă a unei clone de limfocit B sau de plasmocit, în timp ce o creștere policlonală a anticorpilor serici ar putea fi consecința unor reacții autoimune sau inflamatorii. Creșterea IgG, IgA și IgM totale poate fi observată la pacienți cu hepatită sau ciroză, artrită reumatoidă, sau lupus eritematos sistemic. În cea mai mare parte a infecțiilor, primii anticorpi care apar sunt cei aparținând clasei IgM, cei din clasa IgG făcându-și apariția ulterior. În general, antigenele proteice microbiene provoacă în principal un răspuns umoral de subclase IgG1 și IgG3, cu o contribuție minoră a IgG2 și IgG4. Pe de altă parte, antigenele polizaharidice induc predominant formarea de anticorpi IgG2.

Gamopatiile monoclonale

Există numeroși termeni precum gamopatie monoclonală, paraproteină, componenta M, ori proteina M, ce pot fi aplicați pentru a descrie supraproducția de imunoglobuline de

către o singură clonă de limfocite B. Este preferat în general termenul de proteină M (***M-protein***), deoarece nu implică alte caracteristici structurale ale moleculei decât natura ei omogenă, însemnând în acelaşi timp că pacientul prezintă o condiţie patologică.

Proteina M corespunde observării unui profil restricţionat de migrare electroforetică în timpul electroforezei proteinelor serice, însă nu reflectă vreun mecanism celular particular implicat în producerea clonală a imunoglobulinelor. În încercarea de a unifica numeroasele apelaţii menţionate mai sus, a fost propus termenul general de imunoglobinopatii pentru a desemna supraproducţia clonală de imunoglobuline. Căutarea unei componente M poate fi relevantă la pacienţi prezentând neuropatii periferice neexplicate, sindromul de tunel carpian, sindrom nefrotic, insuficienţă renală, cardiomiopatie, insuficienţă cardiacă refractară, hipotensiune ortostatică, maladia von Willebrand dobândită, sau malabsorbţie, deoarece toate aceste anomalii au fost asociate cu gamopatiile monoclonale.

Detecţia superproducţiei unei singure imunoglobuline este asociată în mod clasic cu dezordini proliferative ale limfocitelor B, cum ar fi mielomul multiplu, macroglobulinemia Waldenström, limfomul non-Hodgkin, leucemia limfocitară cronică (LLC), sau amiloidoza, putând însă fi observată şi în absenţa unei maladii maligne, situaţie cunoscută sub numele de gamopatie monoclonală cu semnificaţie nedeterminată (***monoclonal gammopathy of undetermined significance – MGUS***). Dezordini limfoproliferative ale celulelor B trebuie suspectate în locul MGUS la pacienţi prezentând proteină M asociată cu simptome neexplicate precum anemie, dureri de spate, slăbiciune sau oboseală, leziuni osteolitice, fracturi, osteopenie, hipercalcemie, insuficienţă renală, proteinurie, insuficienţă difuză a reabsorbţiei la nivelul tubilor renali proximali cauzatoare de glicozurie, aminoacidurie generalizată şi hipofosfatemie (sindromul Fanconi dobândit), ori asociată cu un istoric de infecţii bacteriene recurente.

Neoplasmele plasmocitelor se manifestă de obicei ca leziuni diseminate ale măduvei osoase (mielomul multiplu) şi mai puţin frecvent sub formă de tumori extramedulare solitare clasificate ca plasmocitoame. Plasmocitele maligne secretă de obicei monoclonal IgG (60 %) sau IgA (20 %), mai rar IgD (1-2 %). La pacienţii cu mielom multiplu există o creştere cantitativă a concentraţiei sanguine de imunoglobuline, toate aceste molecule având însă aceeaşi specificitate şi necontribuind prin urmare la apărarea imună. Concentraţia imunoglobulinelor normale este de obicei scăzută datorită dereglării limfopoiezei şi a diferenţierii celulelor B.

Termenul de gamopatie monoclonală cu semnificaţie nedeterminată (MGUS) denotă prezenţa unei proteine monoclonale la pacienţi fără dovezi de dezordini proliferative ale

celulelor B sau ale plasmocitelor. Acest tip de gamopatie este relativ comun, cu o prevalenţă de aproximativ 0,15 % în populaţia generală. Ocurenţa creşte însă cu vârsta, MGUS fiind detectate la aproximativ 1 % din persoanele peste 50 de ani, 3 % la peste 70 de ani şi 4 % peste 80 de ani. MGUS pot fi asociate la rândul lor cu diferite dezordini, cum ar fi malignităţi hematologice nelegate de celulele B, stări de imunodeficienţă secundară, maladia von Willebrand, boli ale ţesutului conjunctiv şi dezordini neurologice. O proporţie semnificativă a pacienţilor cu MGUS vor dezvolta pe termen lung mielom multiplu sau alte afecţiuni corelate. În plus, există o seamă de date clinice neobişnuite datorate proprietăţilor specifice de legare ale anticorpilor gamopatiilor monoclonale. Aceşti anticorpi particulari pot conduce la probleme clinice severe în absenţa malignităţilor, drept pentru care maladiile respective au fost denumite gamopatii monoclonale „perverse".

La mai bine de 5 % din pacienţii cu gamopatii monoclonale apar gamopatii biclonale, fiind caracterizate prin prezenţa a două imunoglobuline plasmatice omogene. Gamopatiile biclonale pot rezulta din proliferarea a două clone de plasmocite, fiecare producând propria proteină monoclonală, sau din producerea a două proteine M de către o clonă de plasmocit. Au fost de asemenea identificate gamopatii triclonale şi oligoclonale, identificare imunoglobulinelor clonale multiple depinzând de sensibilitatea tehnicilor utilizate.

Paraproteinele IgM

Paraproteinele IgM sunt anticorpi din clasa IgM derivaţi din aceeaşi clonă de limfocit B şi având prin urmare proprietăţi imunochimice şi activităţi funcţionale identice.

Paraproteinele IgM circulante în cantităţi mari sunt o caracteristică esenţială a macroglobulinemiei Waldenström, însă pot apărea şi în alte dezordini limfoproliferative B ori în manifestări benigne, în special la vârstnici.

Maladia monoclonală a lanţurilor grele

Maladia lanţului greu (*Heavy chain disease – HCD*) este o boală rară caracterizată prin secreţia de proteine monoclonale consistând în catene grele incomplete ale imunoglobulinelor.

Gama-HCD este asociată cu sinteza crescută şi eliberarea de catene γ monoclonale ale IgG, fiind însoţită de limfoadenopatie şi osteoliză. Alfa-HCD, denumită şi limfom mediteranean, se caracterizează prin secreţia de catene α ale IgA de către plasmocitele mucoasei intestinale. Aceasta provoacă dezvoltarea progresivă a unui sindrom de

malabsorbţie, diaree şi dureri abdominale. Mu-HCD (μ-HCD) apare în conjuncţie cu maladii limfoproliferative, în particular leucemii limfocitare cronice (LLC).

Maladii ale catenelor uşoare

Plasmocitoamele Bence-Jones se caracterizează prin secreţia exclusivă de lanţuri uşoare ale imunoglobulinelor (proteine Bence Jones), detectabile în ser şi urină, în concentraţii diferite în funcţie de stadiul de progresie a maladiei.

Electroforeza proteinelor serice ale acestor pacienţi prezintă adesea o descreştere importantă a imunoglobulinelor totale (deficienţă secundară a anticorpilor), datorită înlocuirii precursorului hematopoietic din măduva osoasă cu celule de mielom, prin urmare a unei limfopoieze deficitare. Producerea de lanţuri uşoare este de asemenea asociată cu amiloidoza primară neereditară a catenelor uşoare, caracterizată prin depunerea de fibrile provenite din catenele uşoare imunoglobulinice. Această boală apare în dezordinile plasmocitelor, în special în mielomul multiplu sau macroglobulinemia Waldenström. Amiloidoza induce cel mai adesea simptome renale, deşi au fost observate şi implicări cardiace sau gastrointestinale.

Sindromul hiper-IgD

O creştere evidentă a IgD serice a fost observată la pacienţii cu boală Hodgkin, după câteva luni de la splenectomie, la copiii cu sindrom kwashiorkor, precum şi în urma transplanturilor alogenice de măduvă osoasă. De asemenea, valori mari ale IgD serice au fost înregistrate la copii în urma chimioterapiei pentru malignităţi, la anumiţi pacienţi cu hiperparatiroidism, la numeroşi copii cu febră periodică, stomatită aftoasă, faringită, sindrom de adenopatie, sau la fumători.

Sindromul de hiperimunoglobulinemie D (hyperimmunoglobulinemia D syndrome – HIDS), descris pentru prima oară în 1984, este practic singura entitate pentru care se justifică măsurarea IgD policlonale în vederea diagnosticului.

Sindromul se caracterizează prin atacuri febrile recurente însoţite de dureri abdominale, artralgie, dureri de cap şi leziuni ale pielii. HIDS se moşteneşte probabil ca un caracter autozomal recesiv, putând fi cauzat de mutaţii ale genei mevalonat kinazei. Pacienţii prezintă o reacţie de hipersensibilitate de tip 3 necontrolată, probabil datorită implicării unor complexe conţinând IgD.

CITOKINELE

Elaborarea şi dezvoltarea unui răspuns imun efectiv presupune implicarea celulelor limfoide, a celulelor inflamatorii şi a celor hematopoietice. Interacţiunile complexe între aceste celule sunt mediate de un grup de proteine desemnate colectiv sub numele de citokine, noţiune ce denotă rolul lor în comunicarea intercelulară.

Citokinele sunt proteine sau glicoproteine reglatoare de masă moleculară mică, secretate în organism de leucocite sau de alte celule ca răspuns la anumiţi stimuli. Aceste proteine asigură reglarea dezvoltării celulelor efectoare ale sistemului imun, unele din ele având chiar propriile funcţii efectoare. Termenul general de citokine a înlocuit, fiind mai cuprinzător, denumirile mai vechi de limfokine (secretate de limfocite) şi monokine (secretate de monocite şi macrofage).

Proprietăţile citokinelor

Citokinele se leagă la receptori specifici de pe membrane celulelor ţintă, declanşând diferite căi de transducere a semnalului prin care în final va fi modificată expresia genică a celulelor ţintă.

Susceptibilitatea celulei ţintă la o anumită citokină este determinată de prezenţa unor receptori membranari specifici. În general, citokinele prezintă o foarte mare afinitate pentru receptorii proprii, cu constante de disociere K_a între 10^{-10} şi 10^{-12} M, ceea ce le permite medierea semnalelor biologice la concentraţii picomolare. O citokină poate lega receptorul specific de pe aceeaşi celulă care a secretat-o, exercitând o acţiune autocrină; deopotrivă, ea poate lega receptorul unei celule învecinate (acţiune paracrină) sau îndepărtate în organism (acţiune endocrină).

Citokinele reglează intensitatea şi durata răspunsului imun prin stimularea sau inhibarea activării, proliferării, sau/şi diferenţierii diferitelor tipuri celulare, ori prin reglarea secreţiei de imunoglobuline şi de alte citokine. Legarea unei anumite citokine la celula ţintă stimulează în această celulă expresia de receptori pentru citokine şi secreţia de alte citokine, care la rândul lor afectează alte şi alte celule. Din acest motiv, citokinele secretate chiar şi de un mic număr de limfocite activate de către antigen pot influenţa numeroase celule implicate în răspunsul imun.

O anumită citokină poate avea mai multe efecte biologice diferite asupra diferitelor celule ţintă, ceea ce denotă acţiunea pleiotropică a respectivei citokine. Totodată, două sau

mai multe citokine pot media funcţii similare, prezentând astfel redundanţă; redundanţa face dificilă atribuirea unei funcţii particulare unei anumite citokine precise.

Sinergismul citokinelor reprezintă fenomenul prin care efectele combinate a două citokine asupra activităţii celulare sunt mai mari decât efectele adunate ale citokinelor individuale. În unele cazuri, citokinele prezintă antagonism; este cazul în care efectul unei citokine inhibă sau anulează efectul unei alte citokine. Inducţia reacţiilor în cascadă, proprietate fundamentală a citokinelor, apare atunci când acţiunea unei citokine asupra celulei ţintă induce acestei celule producţia uneia sau a mai multor alte citokine, care la rândul lor vor induce alte celule să producă alte citokine.

Multe din citokine sunt cunoscute sub denumirea de interleukine (**IL**), nume indicând faptul că sunt secretate de anumite leucocite şi acţionează asupra altor leucocite.

Au fost identificate 25 de interleukine până la ora actuală, existând motive serioase în a crede că acest grup va fi completat în viitor şi de alte interleukine descoperite.

Unele citokine sunt cunoscute sub denumiri comune, cum ar fi interferonii sau factorii de necroză tumorală (***Tumor necrosis factor – TNF***). În ultima vreme, interesul a fost purtat către alt subgrup de citokine cu masă moleculară redusă, chemokinele, proteine ce afectează fenomenul de chemotaxis şi alte aspecte ale comportamentului leucocitelor, jucând un rol important în răspunsul inflamator.

Asemeni hormonilor şi factorilor de creştere, citokinele sunt factori solubili secretaţi, care îşi exercită efectele biologice la concentraţii picomolare prin legarea la receptori specifici de pe celule ţintă. Spre deosebire însă de factorii de creştere, ce tind a fi produşi în mod constitutiv, citokinele sunt secretate ca răspuns la stimuli discreţi, având o durată de viaţă foarte scurtă, de la câteva ore la câteva zile. Spre deosebire de hormoni, care în general acţionează endocrin pe distanţe lungi afectând un singur tip celular, citokinele acţionează autocrin şi paracrin pe distanţe scurte, fiind produse şi având acţiuni asupra a numeroase tipuri celulare.

Citokinele sunt în general proteine cu masa moleculare mai mici de 30 kDa. Studiile structurale arată că toate citokinele caracterizate până în prezent aparţin uneia din următoarele mari familii: familia hematopoietinelor, familia interferonilor, familia chemokinelor şi familia factorilor de necroză tumorală (TNF).

Funcțiile biologice ale citokinelor

Deşi numeroase celule pot secreta citokine, principalii producători sunt celulele T_H (limfocitele T helper) şi macrofagele. Citokinele produse de aceste două tipuri celulare activează o întreagă rețea de celule.

Printre numeroasele răspunsuri fiziologice ce necesită implicarea citokinelor, putem menționa: dezvoltarea răspunsului imun celular şi umoral, inducerea răspunsului inflamator, reglarea hematopoiezei, controlul proliferării şi al diferențierii celulare, vindecarea rănilor. Cu toate că răspunsul imun la un antigen poate include producția de citokine, trebuie precizat faptul că acestea acționează într-o manieră total independentă de antigen.

Citokinele sunt implicate într-o gamă deosebit de largă de activități biologice, printre care imunitatea înnăscută, imunitatea adaptativă, inflamația, sau hematopoieza. Numărul total al proteinelor cu activitate citokinică depăşeşte 100, cercetările continuând permanent în sensul descoperirii de noi citokine.

În tabelul V.6 sunt sintetizate activitățile câtorva din cele mai importante citokine, tabelul V.7 prezentând o clasificare a acestora pe grupe funcționale. Trebuie însă avut în vedere faptul că cea mai mare parte a funcțiilor prezentate în cele două tabele au fost identificate analizând efectele unor citokine recombinante, adesea în concentrații nefiziologice, prin adiția lor individuală la sisteme *in vitro*. Totuşi, citokinele nu acționează niciodată individual *in vivo*, celula țintă fiind mai degrabă expusă unui mediu conținând un amestec complex de citokine, ale căror efecte combinate, deseori sinergice ori antagoniste, pot avea consecințe foarte diferite. În plus, citokinele induc adeseori sinteza de alte citokine, rezultând cascade de activități.

Pentru a exercita funcțiile lor biologice efectoare, citokinele trebuie mai întâi să se fixeze la receptori specifici, exprimați pe membranele celulelor țintă. Datorită faptului că aceşti receptori sunt exprimați pe numeroase tipuri celulare, citokinele pot afecta o gamă celulară deosebit de diversă.

Tabelul V.6. Activitățile câtorva din cele mai importante citokine

CITOKINA	CELULE SECRETOARE	ȚINTE ȘI EFECTE
	Citokine ale imunității înnăscute	
Interleukina 1 (IL-1)	- Monocite - Macrofage - Celule endoteliale - Celule epiteliale	- Vase de sânge (inflamație) - Hipotalamus (febră) - Ficat (inducerea proteinelor de fază acută)
Factorul de necroză tumorală α (Tumor necrosis factor – TNF- α)	- Macrofage	- Vase de sânge (inflamație) - Ficat (inducerea proteinelor de fază acută) - Pierderea mușchilor și a grăsimii corporale (cahexie) - Inducerea morții a numeroase tipuri celulare - Activarea neutrofilelor
Interleukina 12 (IL-12)	- Macrofage - Celule dendritice	- Celule NK - Influențează imunitatea adaptativă (promovarea subsetului T_H1)
Interleukina 6 (IL-6)	- Macrofage - Celule endoteliale	- Ficat (inducerea proteinelor de fază acută) - Influențează imunitatea adaptativă (proliferarea și secreția de anticorpi a limfocitelor B)
Interferonul α (IFN- α)	- Macrofage	- Induce o stare antivirală în majoritatea celulelor nucleate - Stimulează expresia MHC I - Activează celulele NK
Interferonul β (IFN- β)	- Fibroblaste	- Induce o stare antivirală în majoritatea celulelor nucleate - Stimulează expresia MHC I - Activează celulele NK
	Citokine ale imunității adaptative	
Interleukina 2 (IL-2)	- Limfocite T	- Proliferarea limfocitelor T ; poate provoca moartea celulară indusă prin activare (Activation-induced cell death – AICD) - Activarea și proliferarea celulelor NK - Proliferarea limfocitelor B
Interleukina 4 (IL-4)	- Limfocite T_H2 - Mastocite	- Promovarea diferențierii limfocitelor T_H2 - Comutarea de clasă spre IgE
Interleukina 5 (IL-5)	- Limfocite T_H2	- Generarea și activarea eozinofilelor
Interleukina 25 (IL-25)	Necunoscute	- Induce secreția profilului citokinic al T_H2
Factorul β de transformare a creșterii (Transforming growth factor – TGF- β)	- Limfocite T - Macrofage - alte tipuri celulare	- Inhibă proliferarea și funcțiile efectoare ale limfocitelor T - Inhibă proliferarea limfocitelor B - Comutarea de clasă spre IgE - Inhibă macrofagele
Interferonul γ (IFN- γ)	- Limfocite T_H1 - Celule $CD8^+$ - Celule NK	- Activează macrofagele - Stimulează expresia MHC I și MHC II - Stimulează prezentarea antigenelor

Tabelul V.7. Categorii funcţionale ale citokinelor

IL=interleukine; IFN=interferon; TNF=Tumor Necrosis Factor; TGF= Transforming growth factor; CSF=Colony Stimulating Factor; OPGL=Osteoprotegerin Ligand; BAFF=B-cell Activation factor; SCF=Stem Cell Factor; LT=Lymphotoxin; OPG=Osteoprotegerin

Funcţia - Procesul	Citokine efectoare	Citokine inhibitoare
Inflamaţia	IFN-γ, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IL-18, IL-19?, IL-20?, IL-22, IL-24, IL-27, TNF, LTα	IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, TGF-β
Răspunsul la patogeni extracelulari	IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-11, IL-13, IL-15, IL-16, IL-25, IL-27, TNF	IFN-γ, IL-10, IL-12, IL-27, TGF-β
Hematopoieza	IL-1, IL-3, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-14, IL-15, IL-17, IL-25, OPGL, SCF, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, BAFF	
Răspunsul la patogeni intracelulari	IFN-α/β, IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-21, IL-23, IL-27, IL-28A, IL-28B, IL-29, TNF, LTα	IL-10, IL-11, TGF- β
Remodelarea osoasă	OPLG, M-CSF, IL-1, IL-6, IL-11	OPG, IL-18, GM-CSF
Anti-tumoral	TNF, LTα, IL-27	
Dezvoltarea organelor limfoide secundare	LTαβ, OPLG	
Chemotaxis al leucocitelor	IL-8, IL-15, IL-16, TGF-β, chemokine	

Caracterizarea biochimică a receptorilor pentru citokine a progresat destul de lent, datorită în parte a nivelului lor foarte jos de expresie membranară. Ca şi în cazul citokinelor, clonarea genelor codând pentru receptorii citokinelor a condus la progrese rapide în identificarea şi caracterizarea acestor receptori. Astfel, receptorii pentru diverse citokine sunt destul de diverşi din punct de vedere structural, însă aproape toţi aparţin uneia din cele cinci familii de receptori pentru citokine:

- Receptorii din superfamilia imunoglobulinelor;
- Familia de receptori pentru citokine de clasă I (cunoscută sub denumirea de familia receptorilor pentru hematopoietină);
- Familia de receptori pentru citokine de clasă II (cunoscută sub denumirea de familia receptorilor pentru interferon);
- Familia receptorilor pentru TNF;
- Familia receptorilor pentru chemokine.

A fost identificat un grup de proteine care inhibă activitatea biologică a citokinelor, proteine astăzi cunoscute sub denumirea de antagonişti ai citokinelor. Aceste proteine acţionează fie legând direct receptorul pentru citokină şi neactivând celula ţintă, fie fixând direct citokina respectivă, inhibându-i activitatea. Antagoniştii sau inhibitorii citokinelor se găsesc în fluxul sanguin şi în fluidele extracelulare. Antagoniştii solubili provin din clivarea enzimatică a domeniului extracelular al receptorilor pentru citokine. Printre aceşti receptori solubili putem aminti pe cei ai IL-2, IL-4, IL-6, IFN-γ, IFN-α, TNF-β, LIF (*leukemia inhibitory factor*). De asemenea, unele virusuri produc proteine ce leagă citokinele sau mimează structura acestora. Evoluţia unor asemenea strategii anti-citokinice în lumea vie, de către agenţii patogeni microbieni, demonstrează importanţa citokinelor în organizarea şi promovarea efectivă a răspunsului imun anti-microbian.

Boli legate de citokine

Deficienţele în reţelele complexe reglatoare ce guvernează expresia citokinelor şi a receptorilor pentru citokine au fost asociate cu numeroase maladii. Câteva din cele mai frecvente şi importante afecţiuni rezultând din supra-expresia sau sub-expresia citokinelor şi a receptorilor lor sunt prezentate mai jos.

Şocul septic bacterian

Rolul supraproducţiei de citokine în patogeneză este ilustrat elocvent de şocul septic bacterian, afecţiune comună şi potenţial letală. Ea poate interveni după câteva ore de la infecţia cu anumite bacterii Gram negative, printre care *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter aerogenes,* şi *Neisseria meningitidis.*

Simptomele şocului septic bacterian, care este adesea fatal, includ o scădere a presiunii sanguine, febră, diaree, precum şi cheaguri de sânge larg răspândite la nivelul a numeroase organe.

În SUA de exemplu, 500.000 de persoane sunt afectate anual de această afecţiune, ce cauzează tot anual peste 70.000 de decese. Costul anual global al tratamentului şocului septic în SUA este estimat la peste 5 miliarde de dolari.

Şocul septic bacterian survine atunci când endotoxine aparţinând peretelui celular bacterian stimulează o supraproducţie de IL-1 şi TNF-α de către macrofage, la un nivel ce

determină un şoc septic. Spre exemplu, nivele mai ridicate de TNF-α au fost găsite la pacienţi decedaţi de meningită, comparativ cu pacienţii supravieţuitori acestei maladii. O situaţie similară şocului septic bacterian poate fi obţinută la şoareci prin injectarea de TNF-α recombinant, în absenţa vreunei infecţii bacteriene Gram-negative.

Mai multe studii actuale oferă perspective optimiste de tratament al şocului septic, prin neutralizarea TNF-α sau IL-1, utilizând anticorpi monoclonali specifici sau antagonişti, ceea ce ar preveni survenirea şocului fatal în cazul acestor infecţii.

Şocul toxic bacterian

Numeroase microorganisme produc toxine ce acţionează ca superantigene, molecule ce fixează simultan o moleculă MHC II şi domeniul V_β al receptorului TCR, activând policlonal toate limfocitele T care posedă un domeniu V_β particular. Datorită capacităţii lor unice de fixare, superantigenele pot activa un număr foarte mare de limfocite T, indiferent de specificitatea antigenică a acestora.

Cu toate că mai puţin de 0,01 din limfocitele T răspund la un moment dat unui antigen convenţional, între 5 şi 25 % din limfocitele T pot răspunde unui superantigen. Această largă proporţie se datorează numărului limitat de segmente genice TCR V_β conţinute în linia germinală.

O seamă de superantigene bacteriene au fost asociate cu diferite boli precum şocul toxic bacterian sau unele intoxicaţii alimentare. Printre aceste superantigene putem menţiona mai multe enterotoxine, toxine exfoliante, toxina sindromului de şoc toxic (TSST1) provenită din *Staphylococcus aureus*, exotoxine pirogenice provenite de la *Streptococcus pyrogenes*, precum şi supernatantul MAS din *Mycoplasma arthritidis*. Majoritatea limfocitelor T activate de către aceste superantigene cauzează o producţie excesivă de citokine. Spre exemplu, toxina sindromului de şoc toxic induce nivele excesiv de mari de TNF-α şi IL-1. La fel ca în cazul şocului septic bacterian, aceste concentraţii crescute de citokine pot induce reacţii sistemice incluzând febră, cheaguri de sânge larg răspândite la nivelul a numeroase organe, sau şoc.

Cancere limfoide şi mieloide

Anumite anomalii ale producţiei de citokine sau de receptori ai citokinelor au fost asociate cu unele tipuri de cancere. De exemplu, concentraţii anormal de crescute ale IL-6

sunt secretate de către celule cardiace în mixom (tumoră cardiacă benignă), de către celulele de mielom sau plamocitom, sau de celulele canceroase cervicale sau din vezica urinară.

În celulele de mielom, IL-6 pare să acţioneze într-o manieră autocrină, stimulând proliferarea celulară. Atunci când peste celule de mielom cultivate *in vitro* sunt adăugaţi anticorpi monoclonali anti-IL-6, creşterea celulelor respective este inhibată. În plus, şoarecii transgenici ce exprimă nivele crescute de IL-6 prezintă o proliferare masivă şi fatală de plasmocite, denumită plasmocitoză. Deşi aceste plasmocite nu sunt maligne, proliferarea lor excesivă poate contribui la dezvoltarea unui cancer.

Maladia Chaga

Protozoarul *Trypanosoma cruzi* este agentul cauzativ al maladiei Chaga, caracterizată printr-o supresie imună severă. Capacitate lui *T. cruzi* de a media supresia imună poate fi observată cultivând limfocite T din sângele periferic în prezenţa sau în absenţa lui *T. cruzi* şi evaluând comparativ ulterior reactivitatea imună a acestor celule.

Antigene, mitogene, sau anticorpi monoclonali anti-CD3 pot activa în mod normal limfocitele T periferice, însă în prezenţă de *T. cruzi* celulele T nu sunt activate de nici unul din aceşti agenţi. Deficitul în aceste limfocite a fost identificat a fi o reducere dramatică a expresiei subunităţii α de 55 kDa a receptorului pentru IL-2. Receptorul pentru IL-2 de înaltă afinitate conţine subunităţi α, β şi γ, subunitatea α fiind specifică pentru fixarea citokinei. Cu toate că mecanismul prin care *T. cruzi* supresează expresia subunităţii α este încă necunoscut, este presupusă intervenţia unui factor solubil difuzabil ca mediator al supresiei. Identificarea şi izolarea unui asemenea factor ar avea numeroase aplicaţii clinice pentru reglarea nivelului de limfocite T activate în leucemii sau maladii autoimune.

PROTEINELE SISTEMULUI COMPLEMENT

Funcțiile sistemului complement

Sistemul complement este o componentă a sistemului imunitar alcătuită din peste 30 de proteine solubile sau legate membranar. Este componenta majoră a răspunsului imun umoral. Activitățile biologice ale acestui sistem afectează deopotrivă imunitatea înnăscută şi cea dobândită.

O comparație structurală a proteinelor implicate în cele trei căi ale complementului plasează originea sistemului la nivelul organismelor primitive posedând cele mai rudimentare sisteme imune înnăscute. Pe de altă parte, faptul că interacția unor receptori membranari cu anumite proteine ale complementului este o etapă în controlul activării limfocitelor B conferă aceluiaşi sistem un rol în funcționarea înalt specializată a sistemului imun dobândit (specific). Astfel, este vorba de un sistem multiproteic implicat deopotrivă în imunitatea înnăscută şi în cea umorală şi contribuind la fiecare din acestea printr-o varietate de modalități.

După o activare inițială, diversele componente ale complementului interacționează, într-o cascadă reglată foarte precis, pentru a îndeplini funcțiile biologice:

- Liza celulelor, bacteriilor şi virusurilor;
- Opsonizarea, proces ce favorizează fagocitoza particulelor antigenice;
- Fixarea la receptori specifici ai complementului situați pe suprafața celulelor sistemului imun, ceea ce declanşează funcții celulare specifice, inflamația, precum şi secreția de molecule imunoreglatoare;
- Clearance imun, proces ce elimină din circulație complexele imune, depozitându-le în splină şi în ficat.

Componentele sistemului complement

Proteinele şi glicoproteinele ce formează sistemul complement sunt sintetizate în principal de către hepatocite, cantități semnificative fiind însă produse şi de către monocitele circulante, macrofagele tisulare, sau de către celulele epiteliale ale tracturilor gastrointestinal şi urogenital. Aceste componente reprezintă în greutate aproximativ 5 % din fracția serică globulinică. Cea mai mare parte circulă în ser sub formă de entități inactive funcțional numite proenzime sau zimogene, care pot fi activate prin clivarea proteolitică a unui fragment inhibitor şi expunerea situsului activ. Secvența de reacții a complementului începe printr-o cascadă enzimatică.

Componentele complementului sunt desemnate prin cifre (C1, C3, etc.), prin litere (factorul B, factorul D, etc.), sau prin denumiri comune (factorul omolog de restricție – homologous restriction factor).

În cea mai mare parte a cazurilor, fragmentul cel mic rezultat din clivarea proteolitică este desemnat «a», iar fragmentul mai mare «b». Fragmentul mai mare se fixează pe ținta sa în apropierea situsului de activare; fragmentul mai mic difuzează departe de situsul respectiv, putând iniția răspunsuri inflamatorii localizate prin legarea la receptori specifici. Fragmentele complementului interacționează unele cu altele pentru a forma complexe funcționale. Complexele posedând activitate enzimatică sunt subliniate cu o bară deasupra cifrelor sau simbolurilor (C $\overline{4b2a}$, C $\overline{3bBb}$, etc.).

Activarea complementului

În figura V.5 sunt prezentate diferitele căi prin care poate fi activat sistemul complement. Etapele inițiale, culminând cu formarea fragmentului C5b, pot avea loc prin calea clasică, calea alternă, sau calea lectinelor. Ultimele etape ce conduc la atacul membranar sunt comune celor trei căi.

Calea clasică de activare a complementului începe cu formarea complexelor solubile antigen-anticorp (complexe imune), sau prin fixarea anticorpului la antigenul specific de pe o anumită țintă, ca de exemplu celula bacteriană. IgM și anumite subclase de IgG (IgG1, IgG2 și IgG3) pot activa complementul prin calea clasică, dependentă prin urmare de anticorpi (de imunitatea specifică).

Stagiul inițial al activării implică proteinele C1, C2, C3 și C4, prezente în plasmă sub formă inactivă. Cascada de reacții conduce la formarea C3-convertazei (C4b2a), care va cliva C3 printr-o etapă majoră de amplificare (o singură moleculă de convertază poate genera peste 200 molecule de C3b). Se formează astfel C5-convertaza (C4b2a3b), care va scinda C5 cu formare de C5b. Fragmentele mici rezultate (C4a, C3a și C5a) nu participă direct în cascada reacțională. Ele poartă numele de anafilatoxine și sunt mediatori ai inflamației. Acestea au proprietatea de a fixa receptori pe suprafața mastocitelor și a bazofilelor, inducând degranularea acestora, cu eliberare de histamină și de alți mediatori farmacologic activi. Anafilatoxinele induc de asemenea contracția mușchilor netezi și măresc permeabilitatea vasculară.

Activarea complementului provoacă astfel, prin intermediul anafilatoxinelor, influxul de fluid conţinând anticorpi şi fagocite către situsul de intrare a antigenului. De asemenea, C3a şi C5a pot favoriza aderenţa monocitelor şi a neutrofilelor la celulele endoteliului vascular, extravazarea sau traversarea endoteliului capilar, precum şi migrarea celulelor sistemului imun la nivelul ţesutului afectat. Astfel, complementul îndeplineşte o dublă funcţie simultan prin moleculele sale componente, de pregătire a atacului membranar şi de iniţiere a inflamaţiei prin intermediul anafilatoxinelor.

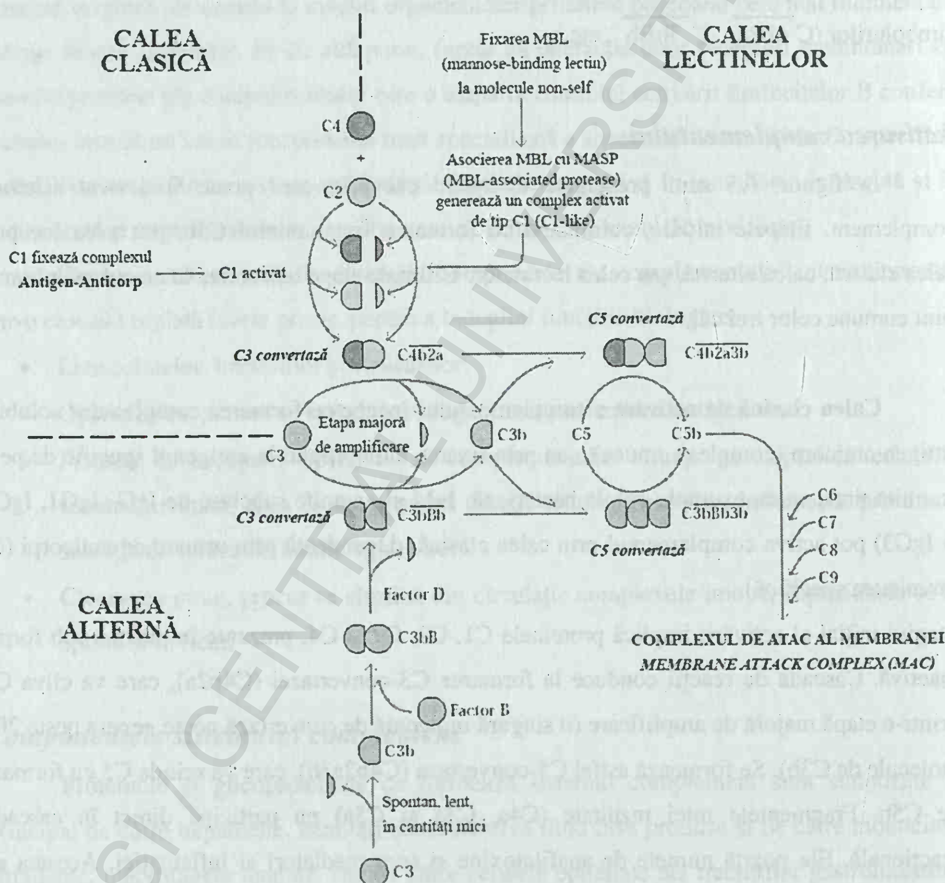


Figura V.5. Activarea complementului prin cele trei căi posibile

Calea alternă generează de asemenea C5b, însă nu necesită pentru inițiere prezența complexelor antigen-anticorp (Figura V.5). Deoarece nu implică intervenția anticorpilor, calea alternă de activare a complementului este o componentă a sistemului imun înnăscut. Ea implică intervenția a patru proteine serice: C3, factorul B, factorul D şi properdina.

Calea alternă este inițiată în cea mai mare parte a cazurilor de către constituenți de pe suprafața celulară străini de organismul gazdă (substanțe non-self, în general microbiene). De exemplu, bacteriile Gram-pozitive şi Gram-negative prezintă constituenți ai peretelui celular care pot activa calea alternă a complementului. În cazul căii alterne, C3-convertaza este C3bBb, iar C5-convertaza este C3bBb3b. Etapa de amplificare este hidroliza C3 de către convertaza respectivă, cu generarea anafilatoxinei C3a.

Calea lectinelor este activată fără prezența antigenului şi fără participarea proteinelor C1, C2 sau C4 (Figura V.5).

Lectinele sunt proteine cu proprietatea de a recunoaşte şi lega specific ținte glucidice (carbohidrați). Calea lectinelor este activată prin fixarea MBL (*mannose-bindig lectin*) la reziduuri manoză ale glicoproteinelor sau glucidelor de pe suprafața unor microorganisme precum *Salmonella*, *Listeria*, *Neisseria*, *Cryptococus* sau *Candida*. MBL este o proteină a fazei acute produsă în răspunsurile inflamatorii.

Calea lectinelor presupune, după fixarea MBL la suprafața celulei sau a patogenului, intervenția serin proteazelor MASP-1 şi MASP-2 (*MBL-associated serin proteases*), cere vor cliva C2 şi C4 pentru a genera C3-convertaza şi ulterior C5-convertaza, mecanism similar cu cel al căii clasice de activare.

Secvența terminală a activării complementului implică proteinele C5b, C6, C7, C8 şi C9, care interacționează în mod secvențial pentru a forma o structură macromoleculară denumită complex de atac membranar (*Membrane-attack complex* – MAC). Acest complex, format din C5b678 înconjurat de C9 polimeric, formează un larg canal prin membrana celulei țintă, permițând ionilor şi moleculelor mici să difuzeze liber de o parte şi de alta a membranei celulare. În aceste condiții, celula țintă nu îşi poate menține stabilitatea osmotică, fiind ucisă prin influx de apă şi pierdere de electroliți.

Deoarece multe din elementele sistemului complement sunt capabile să atace la fel de bine celulele self şi microorganismele, o seamă de mecanisme reglatorii elaborate au evoluat în scopul de a restricționa activitatea complementului la țintele desemnate. Un mecanism comun de reglare pentru toate cele trei căi de activare este includerea de componente deosebit

de labile, care sunt rapid hidrolizate dacă nu interacţionează imediat cu alţi componenţi sau dacă se îndepărtează prea mult de situsul de activare. În plus, există o serie de proteine reglatorii ale activării complementului (RCA), ce pot inactiva componentele complementului.

Dereglările complementului

Funcţiile versatile şi prezenţa ubicuitară a complementului în răspunsul imun/inflamator conferă sistemului complement un rol deosebit de important în apărarea organismului împotriva patogenilor infecţioşi şi a celulelor străine invadatoare. Uneori însă, activarea excesivă a complementului poate cauza alterări tisulare asociate cu numeroase situaţii clinice (Tabelul V.8).

Complementul este implicat aproape în toate situaţiile clinice asociate cu inflamaţia. Între aceste situaţii, cele mai importante sunt infecţiile acute, sepsis, sau dereglări ale complexelor imune. Alte situaţii clinice cu patogeneză asociată în mod clar complementului includ alterările de tip ischemie-reperfuzie în timpul infarctului de miocard, loviturilor sau a şocurilor. Mai recent, a fost evidenţiat rolul important al complementului în bolile cardiovasculare aterosclerotice şi în maladiile neurodegenerative.

În cadrul funcţiei de clearance a complexelor imune, activarea complementului provoacă eliberarea de anafilatoxine, molecule care atrag fagocitele la nivelul ţesuturilor pentru a elimina complexele. Însă radicali liberi, proteaze, sau/şi histamine eliberate de aceste celule pot distruge celulele endoteliului vascular învecinat. La nivel scăzut, aceste distrugeri pot fi tolerate de un individ sănătos; dacă alterările colaterale sunt prea extinse ori durează prea mult, apare o situaţie patologică. De exemplu, activarea complementului este responsabilă de glomerulonefrita complexelor imune.
Glomerulii rinichiului sunt foarte susceptibili la acumularea complexelor imune, datorită structurii şi funcţiei lor de filtre ale lichidelor corpului. Complexele imune provoacă inflamaţia şi iniţiază activarea complementului prin calea clasică, cauzând distrugerea celulelor din peretele capilar glomerular.

Activarea patologică a complementului poate avea loc şi atunci când autoanticorpi ce recunosc ţesuturi self provoacă asamblarea complexului de atac membranar (MAC) împotriva celulelor self. De exemplu, distrugerea mediată de complement a celulelor plăcii neuromusculare a fost asociată cu sindromul autoimun al slăbiciunii musculare (Myasthenia gravis), în care pacienţii prezintă slăbiciune musculară datorită transmiterii neuromusculare defectuoase.

Deficienţe ale proteinelor ce reglează activitatea complementului pot de asemenea cauza tulburări importante. Un exemplu este hemoglobinuria paroxistică nocturnă (*Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria – PNH*), care se manifestă ca o fragilitate crescută a eritrocitelor, conducând la anemie hemolitică cronică, pancitopenie (pierdere de celule ale sângelui de toate tipurile) şi tromboză venoasă. Cauza generală a PNH este deficitul de sinteză a unor proteine membranare reglatoare ale activităţii complementului.

Tabelul V.8. Maladii în care este implicat sistemul complement

Maladii autoimune	Lupus sistemic eritematos
	Artrita reumatoidă
	Dermatomiozita
	Sindromul Sjogren
	Scleroderma
	Anemia hemolitică autoimună
	Purpura trombocitopenică idiopatică
	Scleroza multiplă
	Sindromul slăbiciunii musculare (Myasthenia gravis)
	Miocardita autoimună
	Sindromul anti-fosfolipidic
	Vasculită
Maladii neurologice	Maladia Alzheimer
	Maladia Parkinson
	Sindromul Guillain-Barré
	Maladii prionice
Alterări de tip ischemie-reperfuzie	Infarctul de miocard
	Lovituri
	Şocuri
Maladii cardiovasculare	Ateroscleroza
Diverse	Hemoglobinuria paroxistică nocturnă
	Boala complexelor imune
	Rejecţia hiperacută de transplant
	Sindromul durerii acute respiratorii
	Pre-eclampsia

Deficienţe ale componentelor complementului sunt asociate cu numeroase tulburări clinice. Majoritatea acestor situaţii sunt în general rare, fiind moştenite sub formă de caractere autosomal recesive.

Deficienţele pot fi şi secundare unor tulburări diferite, precum maladiile hepatice. Având în vedere că majoritatea proteinelor complementului sunt sintetizate în ficat, unele afecţiuni hepatice pot rezulta din dereglările de sinteză a complementului, sub formă de deficienţe dobândite.

În general, deficienţele complementului sunt asociate fie cu infecţii recurente (în cazul deficienţelor componentelor de asamblare a MAC), fie cu predispoziţia la tulburări autoimune (în cazul deficienţelor în etapele iniţiale).

Enzimele plasmatice

Determinarea activității enzimelor plasmatice prezintă o mare importanță diagnostică, deoarece modificările enzimatice însoțesc numeroase procese patologice. Renina, factorii complementului şi factorii de coagulare sunt proteine secretate activ în circulația sanguină, unde îşi desfăşoară rolul lor biologic. Cea mai mare parte a enzimelor plasmatice sunt intracelulare, fiind eliberate în sânge în cazul alterărilor membranelor celulare. Prin leziunile ţesutului de origine, enzimele sunt accidental eliberate în sânge, ceea ce antrenează implicit şi creşterea activității lor. Pe de altă parte, aceste creşteri ale activității enzimatice pot fi consecința şi altor cauze cum ar fi: creşterea activității celulare, proliferarea celulară (neoplazică), creşterea sintezei enzimatice (inducția enzimatică), obstrucția conductelor excretoare, scăderea clearance-ului.

Există puține date privind catabolismul enzimelor. Moleculele mici, cum ar fi de exemplu amilaza, sunt filtrate de glomeruli, însă cea mai mare parte din enzime sunt probabil eliminate de celulele reticulo-endoteliale. Activitatea amilazei plasmatice creşte în insuficiența renală acută, dar în general modificările clearence-ului renal nu sunt considerate drept cauze importante ale variației activităților enzimatice plasmatice.

Activitatea enzimatică

În general se determină activitatea catalitică a enzimei şi mai puţin concentrația proteinei enzimatice.

Pentru diagnosticul clinic, măsurarea activității enzimatice în contextul distrucțiilor tisulare este îngreunată de lipsa specificității tisulare sau celulare a enzimelor. Cea mai mare parte a enzimelor sunt prezente în țesuturi diferite, astfel încât creşterea activității unei enzime plasmatice poate reflecta afectarea unuia sau a altui țesut, fără o distincție netă.

Dificultatea diagnosticului în aceste condiții poate fi diminuată prin două modalități:

- pe de o parte, țesuturi diferite conțin una sau mai multe enzime în proporții diferite. Astfel, în caz de alterare tisulară, eliberarea unei anumite enzime va fi mult mai importantă la nivelul țesutului în care concentrația ei este mai mare. De exemplu, alanina- şi aspartat aminotransferazele se găsesc deopotrivă în hepatocite, în muşchiul scheletic şi în muşchiul cardiac, însă proporția enzimei este neglijabilă în muşchi în comparație cu hepatocitele; nivelul crescut al aminotransferazelor indică prin urmare o alterare mai degrabă la nivel hepatic.

- pe de altă parte, unele enzime există în organism sub diferite forme (izoforme), denumite în mod trivial izoenzime (cu toate că termenul izoenzime se referă în mod exclusiv la izoformele determinate genetic). Izoformele sunt adesea specifice unui țesut particular; deși în general activitatea catalitică este similară, izoformele diferă prin altă proprietate precum stabilitatea termică sau sensibilitatea la inhibitori.

În urma unei alterări tisulare, activitatea plasmatică a enzimelor intracelulare crește pe măsura eliberării lor de către celulele afectate, scăzând apoi în urma catabolizării enzimelor respective. În consecință, este foarte important momentul recoltării sanguine, în raport cu alterarea respectivă. Dacă proba este recoltată prea devreme, timpul necesar eliberării și trecerii enzimelor în circulație poate fi prea scurt, iar dacă recoltarea are loc prea târziu, enzimele pot fi deja eliminate în totalitate. Ca în cazul tuturor tehnicilor de diagnostic, rezultatele enzimologiei plasmatice trebuie interpretate în funcție de datele clinice, de toate informațiile disponibile, și trebuie permanent avute în vedere limitele interpretabilității respectivelor rezultate.

Principalele enzime cu valoare diagnostică

Fosfataza alcalină (Fosfomonoesteraza alcalină)

Fosfataza alcalină reprezintă o metaloproteină pe bază de zinc cu rol în scindarea grupării fosfat terminale a esterilor organici, ce funcționează optim în mediu alcalin (pH 10). Enzima este prezentă în ficat, oase (osteoblaști), placentă, epiteliul intestinului gros, celulele endoteliale vasculare și în rinichi. În sângele normal, activitatea fosfatazei alcaline plasmatice derivă în principal din ficat, oase, epiteliul tractului biliar, și doar într-o proporție foarte mică din intestin.

Cauzele creșterii activității fosfatazei alcaline plasmatice pot fi fiziologice sau patologice. Se observă creșteri fiziologice în cursul sarcinii (al treilea trimestru), datorate izoenzimei placentare, precum și în timpul copilăriei (în perioada de creștere osoasă), datorate în acest caz izoenzimei din oase. Activitatea fosfatazei alcaline plasmatice atinge valori foarte mari (peste 400 U/l) la naștere și apoi diminuă rapid, rămânând totuși de 2-3 ori mai crescută decât valoarea normală întâlnită la adult. În perioada creșterii osoase există un alt moment în care fosfataza alcalină atinge din nou valori mari, după care diminuă atunci când creșterea osoasă este terminată. Activitatea fosfatazei alcaline plasmatice este adesea moderat crescută

la vârstnici aparent în stare normală de sănătate. Acest lucru poate reflecta incidența crescută a formelor moderate, subclinice a bolii Paget la persoanele în vârstă.

Creşterile patologice ale activității fosfatazei alcaline (de 10 ori mai mari față de valoarea normală) sunt întâlnite adesea în sindromul de colestază hepatică şi în patologiile osoase caracterizate printr-o creştere a activității osteoblastice (de exemplu boala Paget, osteomalacia şi rahitismul).

Creşterea activității fosfatazei alcaline în bolile hepatice rezultă din sinteza mărită a acestei enzime de către celulele epiteliale ale canaliculilor biliari, în general ca răspuns al unei colestaze intra- sau extrahepatice. O colestază, chiar şi de scurtă durată, se traduce printr-o creştere a activității enzimei la valori cel puțin duble față de limita superioară a valorilor de referință. O activitate mare a fosfatazei alcaline poate fi observată şi în ciroza hepatică.

Activitatea fosfatazei alcaline este frecvent crescută în patologiile maligne ce pot fi de origine osoasă sau hepatică şi este asociată prezenței unei tumori primare sau secundare în aceste țesuturi. Au fost descrise un anumit număr de izoforme de fosfatază alcalină, aparent specifice şi secretate chiar de celulele tumorale. Cea mai cunoscută este izoenzima Regan, ce prezintă o stabilitate termică comparabilă celei placentare şi pe care o găsim în anumite carcinoame bronşice.

Creşteri moderate ale activității fosfatazei alcaline sunt totuşi întâlnite şi în alte afecțiuni, cum ar fi osteodistrofia renală, hiperparatiroidia primară cu afectare osoasă, osteomielită, poliartrita reumatoidă, afecțiuni hepato-biliare, hepatite, afecțiuni inflamatorii ale intestinului, sarcoidoză.

De notat şi faptul că activitatea fosfatazei alcaline nu este crescută în osteoporoză şi în leziunile osoase din mielomul multiplu.

Activitatea fosfatazei alcaline face parte adesea din profilul biochimic şi nu este exclusă găsirea unei activități crescute a acestei enzime în absența unei evidențe clinice a patologiei osoase sau hepatice sau a altor anomalii biochimice. Pentru a stabili însă cauza acestei creşteri este necesară precizarea originii tisulare, aceasta fiind realizată prin determinarea izoenzimelor specifice fosfatazei alcaline (prin tehnici de electroforeză şi inactivare termică diferențială). O altă metodă, mai puțin fiabilă, ar fi şi determinarea γ-glutamil-transferazei plasmatice, enzimă prezentă în ficat dar absentă în os. Activitatea sa plasmatică este adesea (dar nu întotdeauna) ridicată atunci când există în plasmă un exces de fosfatază alcalină de origine hepatică.

Scăderi ale acestei enzime se întâlnesc în acondroplazie, hipotiroidie, sindromul lapte-alcaline, anemie pernicioasă, hipofosfatemie, scorbut, boală celică, cretinism, deficit de

vitamină C, exces de vitamină B. Valori foarte scăzute se întâlnesc în hipofosfatazie, o afecțiune osoasă cu caracter familial.

Tipul testului: sanguin

Metodă de dozare:

- spectrofotometrie pentru fosfataza alcalină totală
- electroforeza pentru fracționare

Valori normale:

Adulți: 30-120 U/L

Vârstnici: valori ușor mai crescute decât cele înregistrate la adulți.

Copii mai mici de 2 ani: 85-235 U/L

2-8 ani: 65-210 U/L

9-15 ani: 60-300 U/L

16 ani: 30-200 U/L

Aminotransferazele

În demersul stabilirii diagnosticului, mai importante sunt două aminotransferaze: aspartat aminotranseferaza (ASAT, TGO, GOT) și alanin aminotransferaza (ALAT, TGP). Transaminazele sau amino-transeferazele sunt enzime tisulare prezente în ficat dar și în mușchi (ASAT în rinichi, pancreas și alte țesuturi).

Cele două enzime sunt larg utilizate în practica clinică drept indicatori sensibili, deși nespecifici, ai leziunilor hepatocitare acute, independent de orice considerație etiologică.

Cauzele leziunilor hepatice sunt hepatita (de orice origine) și leziunile toxice care pot însoți un mare număr de agresiuni la nivel hepatic, cum ar fi o supradoză de medicamente. Leziunile hepatice mai pot rezulta dintr-un șoc, o hipoxie severă sau o insuficiență cardiacă acută.

Distribuția tisulară a celor două enzime este foarte mare. Cu excepția ficatului, ALAT nu este prezentă decât în cantități foarte mici. Chiar și la nivel hepatic, întâlnim aproximativ de trei ori mai multă ASAT decât ALAT ; în mușchii cardiaci și scheletici, nivelul ASAT îl depășește de 20 de ori pe cel de ALAT.

Concentrații crescute ale aminotransferazelor apar în afecțiuni hepatice (hepatită, obstrucție extrahepatică acută, ciroză hepatică, intoxicație medicamentoasă, sindrom Reye, metastaze hepatice, stadiile inițiale de necroză hepatică, hepatită în cadrul mononucleozei infecțioase, procese hepatice infiltrative, stadiul inițial al hemocromatozei, tumori), unele

forme de colecistită, consum cronic de alcool, afecțiuni cardiace (infarct miocardic, aritmii cardiace, insuficiență cardiacă cronică, intervenții chirurgicale, cateterizare cardiacă și angioplastie), afecțiuni ale musculaturii scheletice (traumatisme, intervenții chirurgicale recente, arsuri severe, distrofie musculară progresivă, miopatie, miozită, convulsii recente), anemie hemolitică acută, pancreatită acută, şoc.

ALAT reprezintă indicatorul de citoliză hepatică cel mai frecvent folosit pentru depistarea chiar şi a unor leziuni hepatice minime. În cursul afecțiunilor hepatice, creșterea ALAT este net mai marcată comparativ cu cea a ASAT. O situație inversă se produce în cazul infarctului de miocard sau al leziunilor musculare.

Variațiile ALAT depind de afecțiunea prezentă. Acestea pot fi:

- în hepatita virală, valorile ALAT cresc de peste 10-20 de ori peste limita superioară;
- în hepatita cronică persistentă, ALAT creşte de 2-4 ori, iar în hepatita cronică activă creşte de 5-10 ori;
- în ciroza hepatică uneori valorile ALAT sunt normale sau sunt crescute în puseele de activitate.

Valorile foarte mari de ASAT (peste 500 U/L) sugerează de cele mai multe ori hepatita sau un alt tip de necroză celulară, dar mai pot apare şi secundar în cazul tumorilor mari necrotice, hipoxiei severe, insuficienței cardiace congestive și al şocului. Cu toate acestea, în cazul hepatitei, maximul de activitate se găseşte cel mai adesea la valori de 10-20 ori mai mari decât limita superioară normală.

În majoritatea situațiilor în care activitatea ASAT este crescută, putem observa o creştere concomitentă, dar proporțional mai modestă, a activității ALAT.

Activități de două ori superioare valorii normale pot fi găsite la indivizi care nu prezintă semne clinice de alterare tisulară. În acest context, poate fi suspectat alcoolismul sau o steatoză hepatică nealcoolică. ASAT nu posedă izoenzime specifice unui țesut particular; din acest motiv, dacă nu există alte anomalii biochimice asociate sau o etiologie evidentă asociată creşterii activității, se recomandă în general repetarea analizelor după câteva săptămâni.

În hepatita alcoolică, nivelele ASAT sunt de obicei mai mici de 300 U/L, iar în cea virală acută se pot atinge şi valori de 3000 U/L.

În cursul infarctului miocardic, activitatea ASAT plasmatică începe să crească în primele 12 ore de la survenirea infarctului, atinge un maxim de 10 ori mai mare decât limita superioară normală între 24 şi 36 de ore, urmând să scadă progresiv după 2-3 zile dacă nu există alte alterări tisulare cardiace suplimentare.

Frecvent se compară nivelul ASAT cu cel al ALAT, raportul fiind un indicator bun doar atunci când nivelul ASAT nu depăşeşte de 10 ori valorile normale. Un raport ASAT/ALAT >1 poate fi întâlnit la pacienţii cu ciroză alcoolică, congestie hepatică sau metastaze hepatice iar raportul subunitar se întâlneşte în caz de hepatită acută sau mononucleoză infecţioasă.

Nivele scăzute ale ASAT apar în sarcină, insuficienţa renală acută, dializă renală cronică, uremie, deficit de piridoxină (beri-beri), afecţiuni hepatice cronice, cetoacidoză diabetică.

Tipul testului: sanguin

Metodă de dozare ASAT:

- spectrofotometrie

Valori normale:

Adulţi: femei 10-35 U/L, bărbaţi 20-55 U/L

Vârstnici: valori uşor mai crescute decât cele înregistrate la adulţi.

Nou-născuţi:15-60 U/L.

Tipul testului: sanguin

Metodă de dozare ALAT:

- spectrofotometrie

Valori normale:

Adulţi/copii: 4-36 U/L

Vârstnici: valori uşor mai crescute decât cele înregistrate la adulţi.

Nou-născuţi: valorile pot fi chiar şi de 2 ori mai mari decât cele observate la adulţi.

γ-glutamil transpeptidaza (γ-glutamil transferaza)

γ-glutamil transpeptidaza (γ-GT) este o enzimă microsomală larg distribuită în ţesuturi, cu o concentraţie importantă la nivelul ficatului, pancreasului şi tubilor renali. Cantităţi mici se înregistrează de asemenea în rinichi, splină, cord, intestin, creier şi prostată. Determinarea activităţii sale plasmatice constituie un marker sensibil al patologiei hepatobiliare, cu toate că această analiză nu permite diferenţierea între patologiile colestatice şi cele hepatocelulare. În cazul unei obstrucţii biliare, activitatea γ-GT plasmatică poate înregistra o creştere înaintea fosfatazei alcaline, evoluând paralel cu cea a transaminazelor.

Comparativ cu fosfataza alcalină, nivelul γ-GT nu creşte în afecţiunile osoase, la copii sau la gravide.

Creşterea activităţii γ-GT este de asemenea influenţată de ingestia de alcool, chiar în absenţa unei maladii hepatice evidente, sau de unele medicamente anticonvulsive precum fenitoină sau fenobarbital. Rifampicina utilizată în tratamentul tuberculozei poate avea un efect similar. În aceste cazuri, putem vorbi de un exemplu de inducţie enzimatică, în care creşterea activităţii γ-GT nu este datorată unei alterări tisulare, ci unei producţii crescute de enzimă la nivel celular, având drept consecinţă creşterea cantităţii de enzimă eliberată în timpul ciclului celular normal.

Activitatea plasmatică a γ-GT este adeseori foarte crescută la pacienţii ce prezintă o patologie hepatică de origine alcoolică, dar poate deopotrivă înregistra valori crescute, datorită fenomenului de inducţie enzimatică, la un om sănătos care a consumat alcool, în absenţa oricărui alt semn de alterare hepatică. Până la 70 % dintre indivizi prezintă în aceste condiţii o activitate γ-GT crescută, însă trebuie luate în considerare şi celelalte cauze posibile ale creşterii γ-GT, cum ar fi hepatita acută sau cronică, ciroza (fără colestază), tumori/metastaze hepatice, administrare de medicamente hepatotoxice, colestază, icter, infarct miocardic, pancreatită, cancer de pancreas, mononucleoză infecţioasă, infecţie cu citomegalovirus, sindrom Reye, hipertiroidie, transplant renal. Pe de altă parte, o proporţie semnificativă de indivizi alcoolici prezintă activităţi γ-GT plasmatice normale. Aceeaşi activitate plasmatică poate rămâne crescută până la 3-4 săptămâni de la încetarea consumului de alcool, chiar în absenţa alterărilor hepatice.

Tipul testului: sanguin

Metodă de dozare:

- spectrofotometrie

Valori normale:

Adulţi peste 45 ani: 8-38 U/L

Adulţi sub 45 ani: 5-27 U/L

Copii: asemănător cu adulţii

Nou-născuţi: valorile pot fi chiar şi de 5 ori mai mari decât cele observate la adulţi.

Vârstnici: valori uşor mai crescute decât cele înregistrate la adulţi.

Creatinfosfokinaza (CPK)

Creatinfosfokinaza (CPK) este enzima care intervine în metabolismul adenozinfosfatului şi al creatinei. Împreună cu magneziul, creatinfosfokinaza produce energia necesară contracţiei musculare.

Creatinfosfokinaza este localizată cu preponderenţă în musculatura scheletică, creier şi

miocard. Nivelele serice de CPK cresc în primele 6 ore de la lezarea cordului, muşchilor scheletici şi creierului, atingând valori maxime la 15-20 de ore de la debut şi revenind la normal după 48-72 de ore. Pentru a putea identifica sursa creşterii CPK se determină electroforetic cele 3 izoenzime (CPK-BB, CPK-MB, CPK-MM) ce se formează din cei doi monomeri M şi B ai CPK.

În plasmă, creatin kinaza se găseşte cu precădere sub forma CPK-MM, în timp ce forma CPK-BB este localizată mai ales la nivelul creierului. Chiar în cazul unei afecţiuni cerebrale severe, contribuţia izoenzimei CPK-BB la activitatea plasmatică totală de creatinfosfokinază este minimă.

Creşterea activităţii CPK plasmatice rezultă în general din afecţiunile muşchilor scheletici sau cardiaci:

- creştere importantă în necrozele musculare severe ca polimiozită, rabdomioliză (de exemplu, traumatism sau hipertermie malignă), distrofie musculară Duchenne (DMD), infarct miocardic;
- creştere moderată post-chirurgicală, în traumatisme ale muşchilor scheletici, în urma exerciţiilor fizice intense, convulsiilor, miozitei, DMD;
- creştere slabă de natură fiziologică, în hipotiroidie sau din cauze iatrogene (statine).

La nivelul muşchiului scheletic, CPK se prezintă aproape în totalitate sub forma CPK-MM, în timp ce în muşchiul cardiac forma CPK-MB poate reprezenta până la 30 %. În cazul creşterii activităţii CPK plasmatice, dacă mai mult de 5 % din activitatea totală se datorează izoenzimei CPK-MB, există o puternică prezumţie de afecţiune cardiacă.

Izoenzima CPK-MB este relativ specifică pentru infarctul miocardic, putând servi ca element de diagnostic diferenţial între angina pectorală, tromboembolismul pulmonar şi insuficienţa cardiacă congestivă. Determinarea acestei izoenzime poate fi utilă atât în stabilirea gradului afectării miocardului, cât şi în calcularea timpului scurs de la debut (nivelul creşte la 4-8 ore, atinge vârful la 10-24 de ore şi revine la normal după 3-4 zile).

Deoarece CPK-MB se găseşte atât în miocard cât şi în muşchii scheletici, pentru a diferenţia leziunea miocardică de cea musculară se foloseşte indexul relativ. Acesta este definit ca raportul dintre CPK-MB şi CPK totală şi se exprimă procentual:

CPK-MB/CPK totală x 100 = index relativ

Dacă indexul relativ este egal cu 5 %, leziunea este miocardică.

După un şoc electric sau convulsii, cresc atât CPK totală cât şi CPK-MB, dar indexul relativ rămâne normal. Mai specifică (îndeosebi la pacienţii care se prezintă la mai puţin de 4 ore de la debutul infarctului) decât determinarea activităţii enzimatice a CPK-MB este dozarea cantităţii de CPK-MB. Aceasta se exprima în ng/ml, iar valoarea normală este de 4 ng/ml.

Raportul dintre masa de CPK-MB şi activitatea CPK-MB peste 2,5 este sugestiv pentru injuria miocardică. Pacienţii care au CPK-MB uşor crescut, iar CPK totală normală, au prognostic mai prost decât cei suspectaţi de infarct de miocard, dar cu CPK-MB normală.

Izoenzima CPK-MB poate fi evaluată fie prin măsurarea activităţii enzimatice în prezenţa unui anticorp inhibitor al subunităţii M, fie prin dozarea masei enzimei printr-o metodă imunologică de tip sandwich. În plasmă, reziduul terminal lizină al polipeptidului CPK-M este clivat de către o carboxipeptidază. Fără să afecteze activitatea catalitică, această reacţie modifică sarcina globală a polipeptidului, şi implict mobilitatea electroforetică a enzimei.

La rândul ei, izoenzima CPK-MM se prezintă sub trei izoforme (CPK1,CPK2, CPK3) cu mobilitate electroforetică diferită. CPK-MM3 este compusă din două polipeptide M intacte; în CPK-MM1 cele două polipeptide nu posedă reziduurile terminale lizină, iar CPK-MM2 conţine câte un polipeptid de fiecare tip. Concentraţia plasmatică a izoformelor (CPK-MM2, CPK-MM1 şi CPK-MB1) creşte după aproximativ o oră de la debutul infarctului.

Valori ale CPK-MB2 peste 1,0 U/L sau raportul CPK-MB2 / CPK-MB1 peste 2,5 pun diagnosticul de infarct miocardic acut în 46,4 % din cazuri la 4 ore şi în 91,5 % din cazuri la 6 ore. Rezultate fals pozitive s-au obţinut numai în cazurile de angină instabilă (care se asociază cu mici zone de leziune miocardică). Dacă CPK-MB2 / CPK-MB1 la 2 ore este mai mare de 3,8 înseamnă că s-a produs reperfuzia miocardică. Cu toate acestea, analiza izoformelor CK este o tehnică delicată, pe care puţine laboratoare o au inclusă ca pe o tehnică de rutină.

La persoanele sănătoase, nivelele izoenzimei CPK-MM variază în funcţie de masa musculară şi reprezintă cea mai mare parte a CPK circulante. În miopatii, efort fizic, numeroase injecţii intramusculare, alcoolism cronic sau intervenţii chirurgicale se observă creşterea concentraţiei acestei izoenzime.

Nivelele izoenzimei CPK-BB cresc predominant în lezarea creierului sau a plămânilor (accident cerebrovascular, infarct pulmonar).

Tipul testului: sanguin

Metodă de dozare:

- enzimatică; electroforeză; imunoenzimatică

Valori normale:

CPK totală:

Nou-născuți: 65-580 U/L

Adulți/ Vârstnici (valorile sunt mai mari după efortul fizic):

Femei: 24-173 U/L

Bărbați: 24-204 U/L

Izoenzime:

CPK-MM: 100 %

CPK-MB: 0 %

CPK-BB: 0 %

Lactatdehidrogenaza (LDH)

LDH catalizează conversia intracelulară a lactatului în piruvat. Se găsește în cantități mari în mușchiul striat, ficat, miocard, rinichi și ganglioni limfatici, și în cantități mai reduse în pancreas, eritrocite și plămâni.

Această enzimă tisulară se prezintă sub forma unui tetramer, în care doi monomeri, H și M, se combină în diferite proporții pentru a forma cinci izoenzime ale LDH.

Creșterea activității LDH plasmatice poate avea loc în diverse patologii incluzând afecțiuni acute ale ficatului, ale mușchilor scheletici sau ale rinichilor, precum și în anemiile megaloblastice și hemolitice. La pacienții care prezintă un limfom, creșterea activității LDH este un marker de prognostic negativ, existând o corelație între activitatea enzimatică și volumul tumoral, astfel încât analizele repetate pot fi utile în evaluarea răspunsului la tratament.

La nivelul mușchiului cardiac și al hematiilor, izoenzimele care predomină sunt LDH1, 2 și 3. Rinichii conțin cantități mari de LDH3 și 4, iar musculatura și ficatul LDH4 și LDH5.

Utilizând drept substrat α-hidroxibutirat, activitatea catalitică a LDH1 este superioară celorlalte izoenzime, motiv pentru care mai poartă denumirea de α-hidroxibutirat dehidrogenază (HBDH). HBDH este un marker senzitiv și specific în diagnosticul infarctului miocardic.

În scopul diferențierii între afecțiunile cardiace și cele hepatice, se utilizează calcularea raportului HBDH/LDH. Astfel, un raport scăzut indică o afecțiune parenchimală hepatică, o creștere a raportului înregistrându-se în infarctul miocardic. Cu toate acestea,

raportul HBDH/LDH înregistrează o creştere tardivă în urma infarctului miocardic, iar determinarea sa nu are un interes practic propriu-zis în considerarea patologiei.

Activitatea LDH poate fi interesantă ca marker de diagnostic în cazul în care creşterea activităţii sale plasmatice (datorită eliberării din hematii) survine în cursul crizelor hemolitice ale drepanocitozei.

Tipul testului: sanguin

Metodă de dozare:

- Enzimatică, electroforeză

Valori normale:

Nou-născuţi: 160-450 U/L

Sugari: 100-250 U/L

Copii: 60-170

Adulţi/ Vârstnici: 100-190 U/L

Izoenzime:

LDH1: 17-27 %

LDH2: 27-37 %

LDH3: 18-25 %

LDH4: 3-8 %

LDH5: 0-5 %

Amilaza

Amilaza hidrolizează amidonul, glicogenul, poli- şi oligozaharidele înrudite.

Amilaza este localizată atât la nivelul glandelor salivare cât şi a pancreasului exocrin, şi putem diferenţia izoenzime specifice fiecărui ţesut prin electroforeză, cromatografie pe schimbători de ioni, prin utilizarea inhibitorilor sau de anticorpi monoclonali, însă procedeele sunt foarte costisitoare.

Nivelul seric al amilazei creşte brusc în primele 12 ore de la lezarea pancreasului, glandelor salivare, ovarelor sau muşchilor scheletici. Enzima se menţine la valori ridicate doar 48-72 de ore, amilaza fiind rapid metabolizată de rinichi. Valorile urinare cresc după cele serice.

Activitatea amilazei plasmatice este crescută uneori de 5 până la 10 ori faţă de cea normală, în pancreatitele acute fiind considerată importantă pentru stabilirea diagnosticului.

În cazul pancreatitei cronice şi a obstrucţiei ductului pancreatic, se înregistrează o creştere persistentă a nivelului amilazei.

Specificitatea relativ redusă a acestei enzime pentru afecţiunile pancreatice poate fi compensată prin calcularea raportului amilază/clearance la creatinină. Dacă raportul este mai mare de 5 % atunci diagnosticul de pancreatită este foarte probabil.

Activităţi ale amilazei plasmatice ce ating valori de 5 ori mai mici decât valoarea normală se remarcă în alte situaţii ce se traduc printr-un sindrom abdominal dureros, în special în ulcerul perforat duodenal, alte sindroame abdominale acute, ocluziile intestinale, acidoza diabetică, ruptura trompelor Fallope.

Valori de 5 ori mai mici decât valorile normale sunt înregistrate în afecţiunile glandelor salivare (de exemplu calculi şi inflamaţii-oreion), insuficienţa renală cronică, macroamilazemia, administrarea de morfină (spasm al sfincterului Oddi).

Tipul testului: sanguin şi urinar

Metodă de dozare:

- spectrofotometrie

Test sanguin:

Valori normale: 30-220 U/L

Valorile pot fi uşor mărite în timpul sarcinii şi la vârstnici

Test urinar (24h):

Valori normale: 6,5-48,1 U/h (SI)

Colinesteraza

Există 2 tipuri de colinesterază: colinesteraza specifică sau acetilcolin-hidrolaza din eritrocite, plămâni şi creier, şi colinesteraza nespecifică sau pseudocolinesteraza, prezentă în plasmă, ficat şi cord.

Prima enzimă hidrolizează doar acetil colina, cea de a doua hidrolizează şi esteri ai colinei cum ar fi succinil colina, benzoil colina, tributiril colina, acetil colina.

Pseudocolinesteraza este secretată de ficat în circulaţia sanguină, iar activitatea sa plasmatică este scăzută în patologia hepatitelor cronice, fiind rar măsurată în aceste cazuri.

Importanţa acestei enzime rezultă în principal din capacitatea sa de a hidroliza o substanţă miorelaxantă larg utilizată în anestezie, succinilcolina. Din când în când se întâlnesc pacienţi la care efectele acestei substanţe, ce paralizează respiraţia, persistă mai multe ore de

la administrare (apnee datorată succinilcolinei). Mulţi dintre aceşti bolnavi au o activitate pseudocolinesterazică anormală.

Pe baza activităţii enzimatice în prezenţă de inhibitori au fost identificate 4 variante enzimatice: normală, rezistentă la dibucaină, rezistentă la fluorură şi inactivă. Homozigoţii normali (genotip $E_1^u E_1^u$) reprezintă 95 % din populaţie, iar heterozigoţii cu enzima rezistentă la dibucaină ($E_1^u E_1^a$) reprezintă 4 %. Indivizii homozigoţi pentrurezistenţa la dibucaină ($E_1^a E_1^a$) (0,05 % din populaţie) prezintă un risc de a dezvolta un sindrom apneic, la fel ca bolnavii care produc o enzimă inactivă ($E_1^s E_1^s$). Indivizii ce prezintă anomalii ale colinesterazei, cât şi părinţii lor trebuie depistaţi în scopul de a nu utiliza succinilcolina în cazul anesteziei.

Activitatea pseudocolinesterazei hepatice este scăzută de asemenea în intoxicaţiile cu organofosforice, carbamaţi, în insuficienţa cardiacă cu ficat de stază, la bolnavii cu denutriţie proteică gravă. Scăderi accentuate ale pseudocolinesterazei serice apar după tratamentul cu L-asparaginază al leucemiilor, când are loc o perturbare gravă a sintezelor proteice la nivelul ficatului.

Scăderi moderate întâlnim în anemii grave de tip Biermer, precum şi în reacţia de fază acută (infecţii acute, postoperator sau după un infarct miocardic).

În timpul sarcinii se observă de asemenea o diminuarea fiziologică a acestei enzime.

Creşteri ale pseudocolinesterazei serice se întâlnesc în sindromul nefrotic, în perioada de vindecare a unei hepatite, precum şi la obezi, diabetici şi subiecţii cu hiperlipemie.

Un nivel mai crescut al enzimei apare şi în hipotiroidismul neînsoţit de caşexie şi fără afectarea ficatului, în timp ce la mixedematoşi activitatea enzimatică este de regulă deprimată cu aproximativ 20-30 %.

Tipul testului: sanguin

Metodă de dozare:

- spectrofotometrie

Valori normale: 8-18 U/L

Test inhibitor cu dibucaină: 79-84 %

CAPITOLUL VI. EXPLORAREA BIOCHIMICĂ A FICATULUI

INTRODUCERE

Ficatul joacă un rol important în homeostazia proteinelor, glucidelor şi a lipidelor, dar şi în detoxifierea şi eliminarea substanţelor toxice.

Glicoliza, ciclul Krebs, gluconeogeneza, sinteza şi catabolismul glicogenului, biosinteza şi degradarea aminoacizilor, fosforilarea oxidativă ş.a. sunt procese metabolice care se desfăşoară în hepatocitele bogate în mitocondrii. Ficatul conţine un sistem reticulo-endotelial elaborat pentru sinteza şi degradarea celulelor sanguine. Celulele hepatice metabolizează, detoxifică şi elimină compuşii endogeni şi exogeni.

Cele mai importante funcţii ale ficatului pot fi observate în tabelul VI.1.

Tabelul VI.1. Funcţiile principale ale ficatului

Metabolismul glucidic - Glicoliza - Ciclul Krebs - Gluconeogeneza - Glicogenogeneza şi glicogenoliza
Metabolismul lipidic - Sinteza de acizi graşi - Catabolismul acizilor graşi prin β-oxidare - Sinteza şi excreţia colesterolului - Sinteza lipoproteinelor - Cetogeneza - Sinteza acizilor biliari - 25-hidroxilarea vitaminei D
Metabolismul proteic - Sinteza proteinelor plasmatice (inclusiv a unor factori de coagulare) - Sinteza ureei
Metabolismul hormonal - Metabolismul şi excreţia hormonilor steroidieni - Metabolismul hormonilor polipeptidici
Detoxifiere - Metabolism şi excreţie de medicamente şi substanţe străine organismului
Stocare - Glicogen - Vitamina A - Vitamina B_{12} - Fier
Metabolismul şi excreţia bilirubinei

O leziune organică nu poate afecta aparent activitatea ficatului, deoarece el prezintă o rezervă funcţională considerabilă şi, în consecinţă, examenele simple ale funcţionării hepatice (de exemplu concentraţia plasmatică de albumină şi bilirubină) sunt markeri mai puţin sensibili ai patologiei corespondente. Testele care reflectă o leziune a celulelor hepatice (în special măsurarea activităţii enzimelor hepatice în plasmă) au adesea, cel puţin din acest punct de vedere o valoare mult mai mare.

Rezultatele bilanţului biochimic hepatic standard furnizează rareori, doar ele singure, un diagnostic precis, deoarece acestea semnifică procese patologice comune pentru numeroase patologii.

Bilanţul hepatic cuprinde dozări de substanţe sanguine care contribuie la o orientare simplistă asupra existenţei, amplorii şi tipului de leziune hepatică. În acelaşi timp, parametrii biochimici sunt relativ ieftini, disponibili şi pot orienta prescrierea altor mijloace de diagnostic cum ar fi radiologia şi biopsia ficatului. De asemenea, ei sunt utili în depistarea patologiei hepatice şi în urmărirea evoluţiei lor.

De bicei, o cerere de bilanţ hepatic constă în dozarea bilirubinei, transaminazelor şi a fosfatazei alcaline în ser. Dozarea albuminei serice poate avea în egală măsură un interes pentru explorarea unei afecţiuni hepatice.

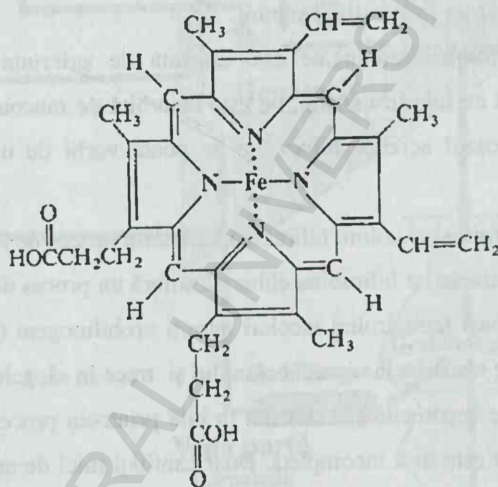
Aceste analize biochimice pot ajuta la diagnosticul diferenţial al unor patologii cum ar fi obstrucţia căilor biliare, leziuni hepatice acute sau maladii hepatice cronice. De exemplu, în ser, concentraţia bilirubinei totale şi a fosfatazei alcaline oferă indicaţii asupra colestazei (blocarea scurgerii bilei), în timp ce transaminazele reflectă integritatea celulei hepatice. De asemenea, concentraţia de albumină este un indicator brut al capacităţii de sinteză a ficatului, fiind însă preferat nivelul protrombinei.

Pacienţii cu o patologie hepatică prezintă adesea simptome şi semne caracteristice, dar semnele clinice sunt adesea nespecifice; la anumiţi indivizi, patologia hepatică este descoperită întâmplător. Datorită relaţiilor strânse dintre ficat şi sistemul biliar, afecţiunile biliare extrahepatice se traduc adesea prin semne clinice ce evocă o afecţiune hepatică sau care au repercursiuni asupra funcţiei hepatice. De exemplu, obstrucţia canalului biliar poate antrena un icter, iar în cazul în care acesta persistă, se poate ajunge la ciroză.

Bilirubina

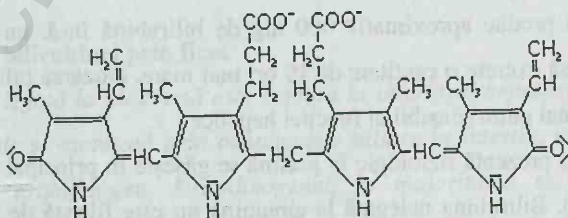
Bilirubina este o substanță galben-maronie, ce se găsește în bilă (lichidul de secreție al hepatocitului, care este colectat în vezica biliară și deversat în duoden în momentul digestiei).

Bilirubina se formează din hem, protoporfirina ce conține fier și care este prezentă în principal în hemoglobină. Bilirubina este eliberată atunci când hematiile îmbătrânite sunt eliminate din circulație de către macrofagele sistemului reticulo-endotelial. Fierul din hem este reutilizat, iar nucleul tetrapirolic este catabolizat în bilirubină (Figurile VI.1 și VI.2). Celelalte surse de bilirubină sunt mioglobina și citocromii.



Hemoglobina





Bilirubina

Figura VI.1. Structura hemoglobinei și a bilirubinei

Bilirubina cu grupările carboxil neesterificate este numită şi bilirubină neconjugată (indirectă). Ea este insolubilă în apă şi se leagă aproape în totalitate la albumina plasmatică. Sub această formă, bilirubina neconjugată este transportată în circulaţia sanguină ajungând la ficat (Figura VI.2). La acest nivel, bilirubina este captată de hepatocite printr-un proces în care sunt implicate mai multe proteine de transport specifice. Astfel, ea este transportată la nivelul reticulului endoplamatic neted, unde suferă un fenomen de conjugare, în principal cu acid UDP-glucuronic, pentru a forma monoglucuronid-bilirubina (20 %) şi diglucuronid-bilirubina (80 %), compuşi mult mai solubili în apă decât bilirubina liberă (neconjugată). Acest proces este catalizat de bilirubin-uridindifosfat (UDP)-glucuronozil-transferaza. Bilirubina conjugată (directă), solubilă în apă, este excretată în canaliculele biliare ajungând prin intermediul acestora în intestinul subţire.

Excreţia bilirubinei conjugate este afectată de suferinţa hepatocitelor. Bilirubina conjugată, revărsată cu bila în intestin, nu este resorbită de mucoasa intestinală, astfel încât, spre deosebire de cazul acizilor biliari, nu se poate vorbi de un circuit enterohepatic al bilirubinei.

În ileonul terminal şi colon, bilirubina suferă un proces de hidroliză sub acţiunea unei glucuronidaze bacteriene, iar bilirubina eliberată suferă un proces de reducere fiind convertită într-o serie de compuşi tetrapirolici incolori numiţi urobilinogeni (stercobilinogeni). O parte din urobilinogeni se resoarbe la nivelul colonului şi trece în sângele portal, dar ajunsă la ficat este rapid captată de hepatocite şi excretată în bilă printr-un proces activ energo-dependent. Captarea sa hepatică este însă incompletă. Doar cantităţi mici de urobilinogen (0-4 mg/24 h) trec în circulaţia sistemică şi apoi sunt excretate în urină. Cea mai mare parte din urobilinogenul intestinal este oxidată în colon într-un pigment brun, stercobilina, care mai departe este excretat în fecale. Asocierea fecalelor decolorate cu urina închisă este caracteristică unei ocluzii extrahepatice a căilor biliare.

Zilnic se produc aproximativ 300 mg de bilirubină însă, un ficat sănătos poate să metabolizeze şi să excrete o cantitate de 10 ori mai mare. Dozarea bilirubinei plasmatice este deci un marker mai puţin sensibil al funcţiei hepatice.

Bilirubina prezentă fiziologic în plasmă se găseşte în principal sub formă neconjugată (în jur de 95 %). Bilirubina nelegată la albumină nu este filtrată de glomerulii renali şi, la indivizii sănătoşi, nu este detectată în urină. O bilirubinurie reflectă o creştere a concentraţiei plasmatice în bilirubină conjugată şi este considerată întotdeauna patologică.

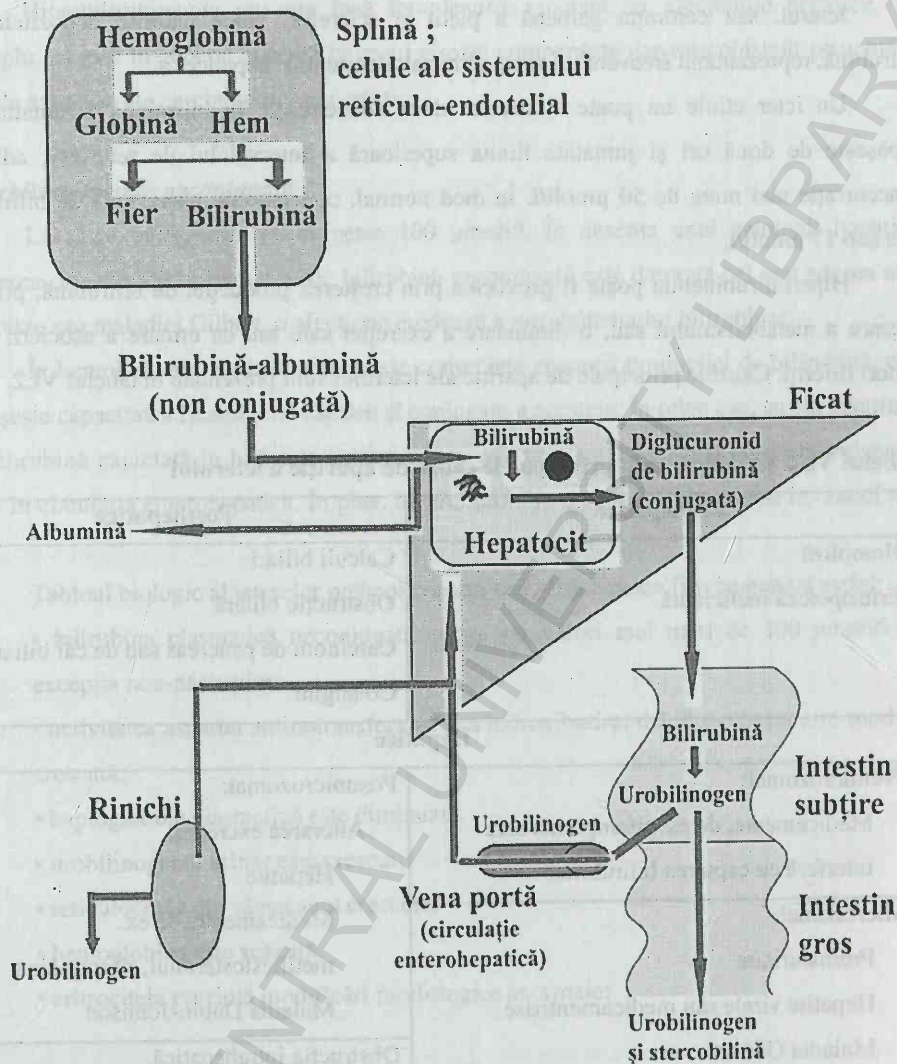


Figura VI.2. Excreția bilirubinei prin ficat

Bilirubina din plasmă legată la albumină este captată în interiorul hepatocitelor, conjugată în reticulul endoplasmic și excretată prin canaliculele biliare în intestin, unde mai departe este transformată în urobilinogen. Urobilinogenul, în majoritatea sa, este oxidat în stercobilină în colon, care este excretată mai departe în materiile fecale. O mică parte din urobilinogen este absorbită la nivelul intestinului greu și trece în circulația enterohepatică. Cea mai mare parte din urobilinogen este excretată în bilă, iar o fracție trece în circulația sistemică fiind excretată în urină.

Icterul, sau colorația galbenă a pielii și sclerelor, apare datorită depozitelor de bilirubină, reprezentând frecvent un semn clinic al afecțiunilor hepatice.

Un icter clinic nu poate fi decelat dacă concentrația în bilirubină plasmatică nu depășește de două ori și jumătate limita superioară a intervalului de referință, adică o concentrație mai mare de 50 µmoli/l. În mod normal, concentrația plasmatică de bilirubină este sub 17 µmoli/l.

Hiperbilirubinemia poate fi provocată prin creșterea producției de bilirubină, printr-o alterare a metabolismului său, o diminuare a excreției sale sau ca urmare a asocierii unor factori diferiți. Cauzele principale de apariție ale icterului sunt prezentate în tabelul VI.2.

Tabelul VI.2. Clasificarea și principalele cauze de apariție a icterului

Prehepatice	**Posthepatice**
Hemoliză Eritropoieză ineficientă	Calculi biliari Obstrucție biliară Carcinom de pancreas sau de căi biliare Colangite
Hepatice	
Premicrozomal: Medicamente, de ex. rifampicina care interferă cu captarea bilirubinei	Postmicrozomal: Alterarea excreției: Hepatite Medicamente, de ex. metiltestosteronul, rifampicina Maladia Dubin-Johnson
Microzomal: Prematuritate Hepatite virale sau medicamentoase Maladia Gilbert Maladia Crigler-Najjar	Obstrucția intrahepatică: Hepatite Ciroze Infiltrații, de ex. limfom, amiloidoză Atrezia biliară Tumori Infecții extrahepatice

Hiperbilirubinemia nu este însă întotdeauna asociată cu afecţiunile hepatice. De exemplu, ea este în general absentă în cazul cirozei compensate dar este obişnuit prezentă în stadiile avansate ale carcinomului pancreatic.

Hiperbilirubinemia neconjugată

La adult, atinge rar valori peste 100 μmoli/l. În absenţa unei patologii hepatice, creşterea concentraţiei plasmatice de bilirubină neconjugată este datorată cel mai adesea unei hemolize sau maladiei Gilbert, o afecţiune ereditară a metabolismului bilirubinei.

În hemoliză, hiperbilirubinemia este consecinţa creşterii producţiei de bilirubină, care depăşeşte capacitatea ficatului de captare şi conjugare a acesteia. În orice caz, cu cât cantitatea de bilirubină excretată în bilă este mai mare, cu atât creşte şi cantitatea de urobilinogen ce trece în circulaţia enterohepatică. În plus, nivelul urobilinogenului urinar creşte la rândul său.

Tabloul biologic al icterelor prehepatice sau hemolitice poate fi schematizat astfel:

- bilirubina plasmatică neconjugată atinge rar valori mai mari de 100 μmoli/l, cu excepţia nou-născuţilor;
- activitatea aspartat aminotransferazei şi a hidroxibutirat dehidrogenazei este moderat crescută;
- haptoglobina plasmatică este diminuată;
- urobilinogenul urinar este crescut;
- reticulocitele din sânge sunt crescute;
- hemoglobina este scăzută;
- eritrocitele prezintă modificări morfologice anormale;

Activitatea enzimelor de conjugare din ficat este în general slabă la naştere, după care creşte rapid. Icterul „fiziologic" tranzitoriu al nou-născutului reflectă această imaturitate.

În cazul unei hemolize excesive, ca de exemplu în incompatibilitatea Rhesus, sau în deficitul enzimatic, în cazul prematurităţii sau a sindromului Crigler-Najjar, poate exista o creştere masivă a concentraţiei plasmatice de bilirubină neconjugată. Dacă concentraţia în bilirubină depăşeşte aproximativ 340 μmoli/l, captarea sa de către creier poate antrena tulburări centrale severe (icter nuclear).

Hiperbilirubinemia conjugată

Este consecința eliberării în circulație a bilirubinei din hepatocite sau din sistemul biliar atunci când calea normală de excreție este blocată. Bilirubina conjugată, solubilă în apă, trece în circulația sistemică și este excretată în urină, care dobândește astfel o colorație portocalie închisă spre brun. În cazul unei obstrucții biliare totale, bilirubina nu ajunge în tubul digestiv, nu se formează stercobilină, iar fecalele sunt decolorate.

Hiperbilirubinemia poate apare datorită unui exces de bilirubină conjugată sau neconjugată. Dozarea bilirubinei conjugate și neconjugate este utilă în diagnosticul de icter neonatal, când nu putem diferenția a priori un defect de conjugare de alte cauze posibile.

Dacă bilirubina plasmatică este inferioară valorii de 100 µmoli/l iar celelalte teste ale funcției hepatice sunt normale, poate fi presupus faptul că această creștere a concentrației bilirubinei plasmatice este datorată formei neconjugate a pigmentului.

Se poate testa și urina pentru confirmare, deoarece în cazul hiperbilirubinemiei neconjugate nu există bilirubină în urină.

În plasma pacienților cu o hiperbilirubinemie îndelungată, se formează o a treia fracțiune de bilirubină, care constă în bilirubina conjugată legată covalent de albumină. Această substanță are un timp de înjumătățire aproximativ egal cu cel a albuminei. Prezența sa în plasmă în timpul fazei de vindecare a unei afecțiuni hepatice, sau creșterea ei după o obstrucție biliară, explică persistența icterului în absența bilirubinuriei

Enzimele plasmatice

Enzimele utilizate în evaluarea funcției hepatice sunt aspartat și alanin-aminotransferazele, numite și transaminaze, fosfataza alcalină și γ-glutamil-transferaza.

În general, aceste enzime nu reprezintă markeri specifici ai disfuncției hepatice, cu excepția izoenzimei hepatice a fosfatazei alcaline. Dintre cele două aminotransferaze, activitatea alanin-aminotransferazei este mult mai specifică ficatului comparativ cu cea a aspartat aminotransferazei.

Creșterea activității aminotransferazelor indică o citoliză. În cazul unei hepatite, activitatea plasmatică a aminotransferazelor poate fi de 20 de ori mai mare decât limita superioară a valorii normale.

În acelaşi timp, în practică, creşterea activităţii aminotransferazelor şi a fosfatazei alcaline este frecventă în afecţiunile hepatice, chiar dacă uneori predomină una din aceste enzime.

În sindromul de colestază, activitatea fosfatazei alcaline plasmatice prezintă valori ridicate. Acest lucru este datorat în principal creşterii sintezei enzimei stimulată de colestază. În icterul obstructiv sever, activitatea plasmatică poate fi de 10 ori mai mare decât limita superioară a valorii normale.

În sindroamele de colestază primară, pot avea loc leziuni hepatocelulare secundare şi o creştere a activităţii aminotransferazelor.

Se observă şi o creştere a activităţii γ-glutamil-transferazei în sindroamele de colestază şi de citoliză: această enzimă este un marker foarte sensibil dar nu specific de patologie hepatică. Astfel, chiar dacă anumite profile enzimatice sunt frecvent observate în diferite afecţiuni hepatice, ele nu reprezintă un veritabil diagnostic.

Enzimologia clinică este utilă în urmărirea afecţiunilor hepatice odată ce diagnosticul este stabilit. Scăderea activităţii aminotransferazelor sugerează o diminuare a citolizei hepatice şi o scădere a fosfatazei alcaline, o vindecare a colestazei. În orice caz, în insuficienţa hepatică acută severă, o scădere a activităţii aminotransferazelor poate indica în mod eronat o ameliorare, în timp ce ea este datorată de fapt unei distrucţii aproape complete a celulelor parenchimatoase.

Celelalte cauze de creştere a activităţii aminotransferazelor, γ-glutamil-transferazei sunt abordate în capitolul proteine şi enzime plasmatice (Capitolul V).

Proteinele plasmatice

Albumina este sintetizată de ficat, iar concentraţia sa plasmatică reflectă în parte capacitatea funcţională a acestui organ.

Albuminemia tinde să scadă în cursul afecţiunilor hepatice cronice, însă rămâne normală în stadiile precoce ale unei hepatite acute, datorită timpului său de înjumătăţire (de aproximativ 20 de zile).

Există şi alte numeroase cauze de hipoalbuminemie (a se vedea capitolul V), dar o concentraţie plasmatică normală de albumină la un pacient ce prezintă o afecţiune hepatică cronică reflectă o funcţie de sinteză normală; o scădere a albuminemiei indică o deteriorare semnificativă.

Timpul Quick (denumit impropriu ca „nivelul" de protrombină) se modifică în afecțiunile hepatice. El reflectă activitatea factorilor de coagulare (dependenți de vitamina K, sintetizată de ficat) printre care factorul VII, cu timpul de înjumătățire cel mai scurt de 4-6 ore. O prelungire a timpului Quick este adesea un semn precoce de afecțiune hepatică acută, dar poate indica și un deficit în vitamina K. Cauza poate fi precizată prin administrarea parenterală de vitamina K: dacă există un deficit, timpul Quick revine la normal în 18 ore.

Creşterea concentrației imunoglobulinelor policlonale este frecventă în afecțiunile hepatice cronice (în special de origine auto-imună) şi poate provoca o creştere a concentrației proteinelor totale plasmatice, chiar dacă albumina este scăzută.

Imunoglobulinele A plasmatice sunt adesea crescute în afecțiunile de origine alcoolică, Ig G în hepatitele auto-imune şi Ig M în ciroza biliară primitivă, dar aceste variații sunt ne-specifice. Elementul diagnostic cel mai pertinent este determinarea autoanticorpilor individuali: anticorpii anti-mitocondrii sunt crescuți în aproape toate cazurile de ciroză biliară primitivă, iar anticorpii anti-muşchi netezi şi anti-nucleari în numeroase cazuri de hepatită autoimună. Infecțiile virale sunt depistate prin determinarea anticorpilor şi a antigenelor virusurilor corespondente.

Utilizarea diagnostică a variațiilor altor proteine plasmatice este menționată în tabelul VI.3.

Tabelul VI.3. Proteinele plasmatice cu valoare diagnostică în afecțiunile hepatice

↑ *- valori crescute ;* ↓ *- valori scăzute*

Proteine	Afecțiuni	Variațiile de concentrație
Albumina	Afecțiuni hepatice cronice	↓
γ-globulinele	Ciroză, în special auto-imună	↑
α_1-antitripsina	Ciroză datorată unui deficit în α_1-antitripsină	↓
Ceruloplasmina	Maladia Wilson	↓
α -fetoproteina	Carcinom hepatocelular primitiv	Puternic ↑
Transferina	Hemocromatoză	Normală dar saturată 100 % în fier
Feritina	Hemocromatoză	Puternic ↑

Alte teste ale funcției hepatice

Pe lângă testele simple descrise mai sus, au fost propuse și altele, în scopul ameliorării sensibilității și a specificității diagnosticului. Astfel, sunt disponibile numeroase teste dinamice care se referă la evaluarea masei celulare hepatice funcționale, însă în practică sunt rar utilizate. Datorită principiului lor, aceste teste pot fi considerate asemănătoare măsurării clearence-lui funcției renale, deoarece utilizând substanțe marcate, excretate sau metabolizate de ficat, ele evaluează capacitatea de epurare sau de metabolizare a acestuia. Astfel de teste sunt: testul respirator cu aminopirină marcată cu ^{14}C, testul de evaluare al demetilării dependent de citocromul P450 și de capacitatea de eliminare a galactozei, sau măsurarea fosforilării galactozei. Aceste teste sunt mult mai sensibile decât explorările convenționale, dar necesită mult mai mult timp, ele fiind utilizate doar în situații particulare (de exemplu urmărirea unui nou tratament, stabilirea unui prognostic etc.). Testul funcțional cantitativ cel mai recent și mai simplu (necesită doar o prelevare sanguină) este măsurarea formării de monoetilglicinxilididă (MEGX) după administrarea de lidocaină. Din nefericire, intervalul de referință este larg și se pare că determinările repetate sunt mai mult informative față o determinare izolată.

Concentrațiile plasmatice de acizi biliari cresc în afecțiunile hepatice, dar dozările de acizi biliari nu sunt în general mai sensibile decât testele clasice. Ele prezintă un interes particular în special în afecțiunile hepatice care apar în timpul sarcinii.

Dozarea plasmatică a diferitelor fracții de bilirubină conjugată este promițătoare în termen de sensibilitate, dar necesită încă ameliorarea tehnicilor. De asemenea, măsurarea activității izoenzimei α a glutation-S-transferazei pare a fi mult mai sensibilă și mai specifică pentru o afecțiune hepatică în comparație cu cea a aminotransferazelor.

AFECȚIUNI HEPATICE

Hepatita acută

Hepatita acută este în general provocată de o infecție virală (în special de virusul hepatitei A, B, C, D și E, dar și de virusul Epstein-Barr și citomegalovirus), sau de toxici (de exemplu alcool, paracetamol, tetraclorura de carbon și diverse fungicide).

Există o variație considerabilă în ceea ce privește gravitatea și evoluția afecțiunii, dar modificările bilanțului biochimic standard reflectă același proces fiziopatologic și sunt similare, oricare ar fi cauza.

Pacienții pot prezenta un icter, dar uneori există un stadiu preicteric cu simptome relativ nespecifice, cum ar fi anorexia sau senzația de rău.

În cursul evoluției unei hepatite acute poate fi depistată precoce, prin bandelete reactive, prezența bilirubinei și a urobilinogenului în urină. Atâta timp cât bilirubina plasmatică este crescută, apare o excreție de bilirubină în urină. Urobilinogenul poate să dispară din urină în momentul de vârf al icterului, atunci când colestaza este totală și bilirubina nu ajunge în tubul digestiv, dar poate să reapară în faza de vindecare, atunci când excreția biliară redevine normală. Aceste variații (Tabelul VI.4) nu au importanță practică pentru urmărirea unei hepatite, însă detecția bilirubinei în urină este un mijloc simplu și eficient pentru orientarea diagnosticului spre o hepatită în stadiul preicteric al bolii.

Tabelul VI.4. Modificările parametrilor biochimici în timpul unei hepatite acute

↑ - *valori crescute* ; ↓ - *valori scăzute*

Parametrii biochimici	Faza preicterică	Faza icterică
Bilirubina plasmatică	N/↑	↑↑
Aminotransferazele plasmatice	↑↑↑	↑
Fosfataza alcalină plasmatică	N	N / ↑
Bilirubina urinară	↑	↑
Urobilinogenul urinar	↑	Absent

Cea mai mare parte a cazurilor de hepatită virală se vindecă definitiv.

În formele severe, se poate instala o insuficienţă hepatică, dar majoritatea pacienţilor care trec de faza acută se recuperează complet. O dovadă în acest sens este faptul că aminotransferazele revin la normal în 10-12 săptămâni.

În câteva cazuri de infecţie cu virusul hepatitei B şi C, activitatea aminotransferazelor rămân crescute; antigenemia persistă şi se instalează o patologie hepatică cronică.

Infecţia cu virusul hepatitei A nu conduce niciodată la cronicizare.

Hepatita cronică

Hepatita cronică este definită ca o inflamaţie hepatică persistentă peste 6 luni. Sunt numeroase cauze posibile pentru apariţia acesteia.

Hepatitele auto-imune (numite şi hepatite cronice active) apar în forme caracteristice la femeile tinere dar la fel de bine pot fi întâlnite la bărbaţi, la toate vârstele. Există şi o formă acută, însă etiologia rămâne necunoscută. Hepatitele auto-imune sunt strâns legate de alte maladii auto-imune. Autoanticorpii (antinucleari şi cei dirijaţi împotriva muşchilor netezi) sunt adesea prezenţi în titru ridicat. Anticorpii antimicrozomali hepatici şi renali sunt caracteristici unei forme de hepatită auto-imună, care se declanşează în special în copilărie, într-o manieră brutală şi cu o evoluţie agresivă.

Activitatea aminotransferazelor plasmatice sunt clasic crescute în cursul unei hepatite cronice, însă celelalte teste hepatice sunt cel mai adesea normale, până în momentul în care se instalează ciroza. Chiar dacă evoluţia naturală a unei hepatite auto-imune este în general ciroza, aceasta poate fi prevenită printr-un tratament supresor.

Insuficienţa hepatică acută

Acest termen înglobează ansamblul semnelor clinice de disfuncţie hepatică severă şi de encefalopatie, care se dezvoltă în următoarele 6 luni de la debutul afecţiunii. Actual este preferat termenul de „hepatită fulminantă”.

Insuficienţa hepatică acută poate fi supraacută (encefalopatia se dezvoltă în următoarele 7 zile de la debutul icterului), acută (8-28 zile) sau subacută (icterul precede encefalopatia timp de 4-12 săptămâni). Este vorba de o situaţie rară, a cărei cauze cele mai frecvente sunt toxicii (de exemplu paracetamolul) şi hepatitele. Leziunea hepatică subiacentă

este adesea reversibilă, deoarece ficatul are o mare capacitate de regenerare, însă modificarea metabolică este profundă, iar prognosticul rezervat. Insuficienţa hepatică acută este însoţită adesea de insuficienţă renală.

Manifestările metabolice de insuficienţă hepatică acută cuprind hiponatremie severă, hipocalcemie şi hipoglicemie. Homeostazia acido-bazică este frecvent perturbată. Se poate dezvolta o acidoză lactică (consecinţa unei insuficiente neoglucogeneze hepatice pornind de la lactat), care poate fi mascată prin alcaloza respiratorie provocată de stimularea anormală a centrilor respiratori. Depresia generalizată a trunchiului cerebral poate conduce la oprirea respiraţiei. În unele cazuri predomină o alcaloză metabolică, datorată pe de o parte pierderii excesive de potasiu prin urină, depleţiei potasice intracelulare şi a hiperaldosteronismului secundar, iar pe de altă parte a acumulării de substanţe bazice în sânge, cum ar fi de exemplu amoniacul.

În ciuda prezenţei unei eventuale insuficienţe renale, concentraţia plasmatică de uree este adesea scăzută, ea reflectând diminuarea sintezei hepatice.

Concentraţia creatininei plasmatice este în teorie un marker mult mai fiabil al funcţiei renale şi a necesităţii de a dializa un pacient.

Timpul Quick este de asemenea prelungit, şi implicit apare alterarea sintezei hepatice a factorilor de coagulare. În acest context, riscul hemoragic este o preocupare clinică sistematică.

Ciroza

Cauzele apariţiei cirozei sunt: ingestia excesivă de alcool, maladiile auto-imune (de exemplu hepatitele auto-imune), ciroza biliară primitivă, persistenţa virusului hepatitei B sau C, precum şi diferite afecţiuni metabolice ereditare cum ar fi boala Wilson, hemocromatoza şi deficitul de α_1-antitripsină.

Datorită marii capacităţi funcţionale a ficatului, anomaliile metabolice şi clinice pot să nu apară până în stadiul avansat al bolii. Până la acel moment, ciroza mai este denumită şi compensată. Nu există teste biochimice simple şi fiabile care să permită diagnosticarea unei stări subclinice. Testele dinamice (a se vedea alte teste ale funcţiei hepatice) ar fi indicate în acest context, dar ele necesită mult timp şi nu constituie teste de rutină.

Propeptidul aminoterminal al procolagenului de tip III (PIIINP) este un peptid produs în timpul sintezei colagenului. Concentraţia sa plasmatică reflectă gradul de fibroză (una din

caracteristicile cirozei), ea putând fi crescută prin inflamație și necroză. Acest peptid este interesant pentru urmărirea pacienților tratați cu un agent citotoxic, metotrexatul, ce poate antrena o fibroză hepatică. Este recomandat ca pacienții tratați cu metotrexat să beneficieze regulat de o biopsie hepatică, a cărei frecvență poate fi diminuată prin dozarea concentrației plasmatice de PIIINP.

Encefalopatia, caracterizată prin scăderea conștiinței și alterarea funcțiilor centrale, este adesea prezentă în stadiul de ciroză decompensată și poate fi un semn de agravare într-o hepatită acută.

Substanțele implicate în apariția encefalopatiei includ amoniacul, care se acumulează în caz de alterare a ciclului ureei, și neurotransmițătorii toxici, cum ar fi octopamina și β-feniletanolamina. Acești neurotransmițători derivă din tirozină și fenilalanină prin decarboxilare bacteriană în tubul digestiv, și sunt în mod normal detoxificați de către ficat. Tratamentul encefalopatiei hepatice trebuie să țină cont de toți factorii agravanți cum sunt hemoragia gastro-intestinală, restrângerea rației proteice alimentare și administrarea de laxative sau spălături pentru a goli tubul digestiv de toate substanțele azotate. Neomicina, un antibiotic ce nu se absoarbe, poate fi utilizată pentru sterilizarea intestinului în scopul reducerii producției de toxine de către bacterii. De asemenea, trebuie menținute un aport energetic important și o homeostazie hidroelectrolitică. În caz de ascită, se impune restricția de sodiu.

Insuficiența renală este una din complicațiile bine cunoscute ale afecțiunilor hepatice cronice, în special în stadiul terminal al cirozei alcoolice. Ea poate să se manifeste printr-o necroză tubulară acută, cauzată de exemplu de o hemoragie sau de o infecție.

Insuficiența renală este adesea de natură funcțională, ceea ce înseamnă că rinichii sunt histologic normali iar funcția tubulară este intactă, în timp ce urina este concentrată și prezintă o concentrație scăzută în sodiu. Acest sindrom „hepatorenal" poate surveni spontan sau poate fi accelerat printr-o pierdere de lichide (diaree sau folosire inadecvată a diureticelor).

Răspunsul la tratament este în general slab; se instalează progresiv o uremie, o retenție de lichid și o hipotensiune severă. Cu toate acestea, decesul este legat mai degrabă de insuficiența hepatică decât de insuficiența renală.

Tulburările endocrine sunt frecvente la pacienții cu afecțiuni hepatice cronice. Cea mai manifestă este feminizarea bărbaților, cu ginecomastie, diminuarea pilozității, atrofia testiculară etc. Este implicată și alterarea metabolismului androgenilor și estrogenilor.

Odată instalată, ciroza hepatică este ireversibilă. Atunci când este posibil, toate cauzele subiacente trebuie tratate cu atenție. Complicațiile specifice cum ar fi ascita, riscul

hemoragic (în relaţie de exemplu cu varicele esofagiene, rezultate din hipertensiunea portală) şi malabsorbţia pot beneficia de tratament. Cauzele de deces cuprind encefalopatia hepatică, sângerările necontrolate şi septicemiile.

Dezvoltarea transplantului hepatic în tratamentul cirozelor a demonstrat necesitatea markerilor de prognostic fiabili. Au fost introduşi numeroşi indici prognostici, bazaţi pe combinarea semnelor clinice şi a rezultatelor parametrilor biochimici, ca de exemplu timpul Quick, albuminemia şi bilirubinemia. Chirurgia nu poate fi realizată dacă prognosticul pe termen scurt este încă bun, nici întârziată dacă starea pacientului este critică.

Alcoolul şi ficatul

Alcoolul reprezintă principala cauză a patologiei hepatice. Acumularea de lipide la nivelul ficatului (steatoza hepatică) survine frecvent la persoanele ce abuzează de alcool. Steatoza poate antrena o creştere moderată a aminotransferazelor plasmatice, o creştere marcată a γ-glutamil transferazei, însă cu o concentraţie normală în bilirubină.

O hepatită alcoolică apare adesea după o perioadă de exces de băuturi alcoolice la pacienţii la care acest consum reprezintă o obişnuinţă.

În sfârşit, alcoolismul cronic este o cauză frecventă de ciroză. Riscul este mult mai mare la femei decât la bărbaţi, dar ciroza nu este sistematică, chiar la marii băutori: doar 10-20 % din marii băutori dezvoltă o ciroză.

Steatoza hepatică non alcoolică

În afară de alcoolism, există şi alte cauze care provoacă steatoza hepatică, printre care cele mai frecvente sunt obezitatea şi diabetul. Celelalte cauze includ alimentaţia parenterală (în special cea hipercalorică), lipsa hranei, anumite erori legate de metabolism (de exemplu glicogenoza de tip 1) şi medicamentele, în special cele antiaritmice, ş.a.

Bolnavii se plâng adesea de o senzaţie de disconfort în sfertul superior drept al abdomenului dar, în general, boala este asimptomatică.

Concentraţiile plasmatice de bilirubină şi albumină sunt normale, dar cele ale aminotransferazelor pot depăşi de 2-3 ori concentraţiile normale cu un raport AST/ALAT inferior sau egal cu 1.

Activitatea γ-glutamil transferazei este în general crescută, într-o proporţie ce reflectă gradul steatozei.

Biopsia hepatică evidenţiază o infiltraţie lipidică, dar diagnosticul se bazează în principal pe semnele clinice şi prin eliminarea altor cauze. La majoritatea pacienţilor prognosticul este bun, vindecarea fiind posibilă dacă se tratează eficient şi cauzele conexe.

În anumite cazuri, există o evoluţie a steatozei în steatohepatită şi în fibroză cu alterarea funcţiilor hepatice, şi la final chiar în ciroză. Originea acestei evoluţii este necunoscută, dar poate fi legată de o creştere a stresului oxidativ.

La câţiva bolnavi la care evoluţia a ajuns până în stadiul final de lezare hepatică, şi care au beneficiat de un transplant, au fost observate recidive.

Tumorile şi infiltraţiile hepatice

Tumorile primitive ale ficatului, rare în ţările occidentale, sunt asociate cirozei, persistenţei markerilor serologici ai hepatitei B şi C, precum şi diferitelor substanţe carcinogene cum sunt aflatoxinele.

α-fetoproteina plasmatică este crescută în momentul diagnosticului la 70 % din pacienţii ce prezintă un carcinom hepatocelular primar. Ea reprezintă un marker interesant pentru acest tip de tumoră, cu toate că valori crescute dar în proporţii mai mici sunt prezente şi în hepatitele acute, cronice şi în ciroză. Afecţiunile de infiltraţie care pot afecta ficatul sunt limfoamele şi degenerescenţa amiloidă.

Pacienţii afectaţi, precum şi cei care prezintă tumori intrahepatice, nu manifestă adesea icter. Singura anomalie biochimică poate fi o creştere a activităţii fosfatazei alcaline plasmatice.

Icterul hepatic

La adult, icterul cu bilirubină neconjugată este în general moderat. Cauzele principale ale acestuia sunt maladia Gilbert, hemoliza şi interferenţa anumitor medicamente cu captarea hepatică a bilirubinei. Ceilalţi parametri ai bilanţului hepatic sunt normali, iar în urină bilirubina este absentă. Maladia Gilbert este cel mai adesea un diagnostic de excludere.

În toate afecţiunile hepatice, alterarea excreţiei bilirubinei este cauza principală de hiperbilirubinemie iar bilirubina în exces este conjugată. Diagnosticul diferenţial de icter cu

bilirubină conjugată se sprijină pe hepatite şi pe cauzele de colestază intra şi extrahepatică, adică pe blocarea scurgerii bilei din ficat spre intestin. Se pot obţine informaţii importante pentru diagnostic prin examenul clinic. Testele biochimice sunt de asemenea informative. De exemplu, creşterea activităţii aminotransferazelor plasmatice sugerează prezenţa leziunilor hepatocelulare, în timp ce o creştere majoră a activităţii fosfatazei alcaline este un semn de colestază. În acest context este importantă serologia, care permite depistarea anticorpilor caracteristici unei infecţii virale.

Foarte rar se pot diferenţia sigur colestazele intra-şi extrahepatice plecând doar de la rezultatele bilanţului hepatic. Odată ce a fost exclusă o hepatită, etapa următoare este în general examenul ecografic, urmat de examene complementare, dacă aceasta arată o obstrucţie biliară.

Anomaliile ereditare ale metabolismului bilirubinei

Se disting 4 tipuri de icter determinate de o anomalie ereditară a metabolismului bilirubinei: maladia Gilbert, maladia Crigler-Najjar, maladia Dubin-Johnson şi sindromul Rotor. Caracteristicile acestor anomalii ereditare ale metabolismului bilirubinei sunt descrise în tabelul VI.5. Maladia Gilbert afectează 2-3 % din populaţie, celelalte maladii fiind rare.

Icterul maladiei Gilbert este în mod obişnuit moderat şi survine intermitent. Este adesea remarcat după o infecţie sau după o perioadă de alimentaţie mai redusă, poate datorită creşterii concentraţiei plasmatice de acizi graşi ne-esterificaţi, care intră în competiţie cu bilirubina pentru transportul de către albumină şi captarea de către celulele hepatice. Poate să apară şi o senzaţie uşoară de rău şi tulburări hepatice însă nu sunt prezente alte manifestări fizice anormale. Ficatul din punct de vedere histologic este normal.

Maladia Gilbert este în general diagnosticată pe baza semnelor clinice şi de excludere a unei hemolize. În caz de incertitudine, se poate utiliza testul de provocare. Caracteristică este o creştere a bilirubinei plasmatice de 20 μmoli/l, ca urmare a unei ingestii de alimente cu o valoare de 400 Kcal în 24 de ore, sau ca răspuns a unei perfuzii cu acid nicotinic (50 mg pe cale intravenoasă în 30 s, cu recoltări de sânge la fiecare jumătate de oră timp de 2 ore, apoi din oră în oră până la 3 ore)

Tabelul VI.5. Anomalii ereditare ale metabolismului bilirubinei

Afecţiuni	Deficit	Caracteristici clinico-biologice
Maladia Gilbert	Diminuarea conjugării bilirubinei şi în anumite cazuri a captării sale (autozomal dominant)	- Hiperbilirubinemie neconjugată moderată, fluctuantă, care creşte à jeun - Biopsie hepatică normală - Viaţă cotidiană normală
Maladia Crigler-Najjar	Tip 1 (autozomal recesiv) Absenţa enzimei de conjugare Tip 2 (autozomal recesiv?) Deficit parţial al enzimei de conjugare	- Hiperbilirubinemie neconjugată severă - Deces precoce prin icter nuclear - Lipsă răspuns la fenobarbital - Hiperbilirubinemie neconjugată severă - Răspuns la fenobarbital - Bolnavii ajung adesea la vârstă adultă
Maladia Dubin-Johnson	Diminuarea excreţiei hepatice a bilirubinei (autozomal recesiv)	- Hiperbilirubinemie conjugată moderată, fluctuantă - Depozit pigmentar hepatic (melanină) - Creşterea raportului coproporfirină I/ III în urină - Bilirubinurie - Viaţă cotidiană normală
Sindromul Rotor	Necunoscut (autozomal recesiv)	- Identică cu maladia Dubin-Johnson cu excepţia pigmentaţiei hepatice

Afecţiuni hepatice rare

Maladia Wilson este o anomalie ereditară (autozomală recesivă) a metabolismului cuprului, caracterizată printr-o diminuare a excreţiei biliare de cupru şi o scădere a incorporării sale la ceruloplasmină. Manifestările biochimice ale maladiei Wilson se referă la o diminuarea a concentraţiei plasmatice de ceruloplasmină, nivele plasmatice de cupru scăzute (cu o creştere a legării de albumină), precum şi o creştere a excreţiei urinare de cupru (a se vedea capitolul V).

Diminuarea ceruloplasminei nu este specifică maladiei Wilson, putând fi de asemenea observată în hepatitele cronice şi în malnutriţie. Diagnosticul de certitudine se pune după biopsie, prin constatarea unui conţinut mare de cupru în ţesutul hepatic. În acelaşi timp se observă depozite hepatice de cupru, însă într-o proporţie mai mică, în ciroza biliară primitivă şi atrezia biliară neonatală, dar acestea prezintă alte manifestări specifice.

Hemocromatoza, afecţiune ereditară caracterizată printr-o captare intestinală excesivă de fier şi existenţa unor depozite tisulare de fier, poate afecta numeroase organe printre care şi ficatul.

Deficitul de α_1-antitripsină, anomalie ereditară datorată fie absenţei proteinei în plasmă, fie prezenţei unei forme anormale, reprezintă o cauză rară de ciroză.

Transplantul hepatic

Transplantul hepatic este din ce în ce mai mult utilizat în cazul afectării severe şi ireversibile a ficatului. Postchirurgical, complicaţiile principale sunt hemoragia, insuficienţa renală, infecţia, nefuncţionarea imediată şi respingerea grefei. Activitatea aminotransferazelor plasmatice şi alte teste ale funcţiei hepatice pot indica apariţia complicaţiilor, însă diagnosticul este pus prin biopsie sau radiologie.

Calculii şi patologia căilor biliare

Calculii sunt compuşi primitivi de colesterol, cu cantităţi variabile de bilirubină şi săruri de calciu. Colesterolul este menţinut în soluţie în bilă datorită proprietăţilor tensioactive ale sărurilor biliare şi ale lecitinei. În formarea calculilor, pe lângă schimbările între proporţia acestor elemente, mai sunt implicaţi şi alţi factori.

La bolnavii cu anemie hemolitică cronică se pot forma calculi primari din diglucuronidele de bilirubină.

Litiaza poate fi clinic ascunsă. Ea poate în acelaşi timp să antreneze o colică veziculară şi o obstrucţie, putând predispune la colecistită, colangită şi pancreatită. Parametrii biochimici sunt necesari pentru urmărirea acestor afecţiuni, iar analiza chimică a calculilor biliari nu are incidenţă asupra diagnosticului de rutină.

Colangita sclerozantă primitivă este o boală hepatică colestatică, caracterizată printr-o inflamaţie şi o fibroză progresivă a sistemului biliar, ce conduce la ciroză şi insuficienţă

hepatică. Cu toate că ea poate surveni la orice vârstă, majoritatea pacienților afectați sunt tineri, iar două treimi dintre ei prezintă o afecțiune inflamatorie intestinală (obişnuit o colită ulceroasă). Majoritatea pacienților sunt pozitivi pentru anticorpii anti-citoplasmă a neutrofilelor polinucleare (ANCA), care nu sunt în nici un caz specifici acestei patologii, pentru că îi regăsim la mai mult de 50 % din pacienții cu hepatite auto-imune. Între 10-30 % din pacienții cu colangită sclerozantă primitivă dezvoltă un colangiocarcinom, o tumoare agresivă a căilor biliare.

Afecțiunile hepatice la copil

Icterul la nou-născuți este fiziologic şi frecvent. Acesta este consecința bilirubinei ne-conjugate şi nu persistă mai mult de două săptămâni de la naştere. Este utilă dozarea separată a bilirubinei conjugate sau directe. Dacă mai mult de 25% din bilirubină este sub formă conjugată, trebuie presupusă o patologie hepato-biliară. Semnele clinice care indică o afecțiune hepatică sunt fecalele decolorate, urina închisă la culoare, contuziile, hemoragiile, hepatomegalia, probleme de creştere şi, mai rar, semnele de dismorfie. Cauzele hiperbilirubinemiei conjugate la noul născut cuprind hepatitele neonatale (datorate unei infecții în uter, de exemplu infecția cu citomegalovirus, rubeola, toxoplasmoza, sau o infecție perinatală de exemplu cu virusul herpes), malformațiile biliare (atrezia biliară, chişti ai coledocului) şi tulburările metabolice (deficitul în α_1-antitripsină, tirozinemia de tip 1, galactozemia, fibroza chistică sau mucoviscidoza, etc.).

După perioada neonatală, cauzele afecțiunilor hepatice sunt hepatitele virale, bolile auto-imune şi tulburările metabolice.

Contrar nou-născuților, copiii mai mari cu afecțiuni hepatice pot fi lipsiți de icter.

Afecțiunile hepatice în timpul sarcinii

Sarcina poate scoate în evidență o patologie hepatică nediagnosticată sau poate exacerba o afecțiune preexistentă cunoscută, în special ciroza biliară primitivă. În acelaşi timp, anumite afecțiuni hepatice apar în timpul sarcinii. Există două situații care pot antrena o colestază: hiperemeza gravidică şi colestaza intrahepatică gravidică.

În hiperemeza gravidică, vomismentele severe, obişnuite în primul semestru, pot antrena o deshidratare şi o denutriție. Poate să apară un icter moderat, iar activitatea enzimelor

plasmatice depăşeşte peste 4 ori valorile normale. Steatoza hepatică a fost demonstrată pe biopsii şi se pare că este legată de denutriţie, în măsura în care anomaliile dispar prin ameliorarea raţiei alimentare.

Colestaza intrahepatică gravidică apare în mod caracteristic în ultimul trimestru. Semnul clinic principal este pruritul, însoţit apoi de un icter moderat. Concentraţia plasmatică a bilirubinei depăşeşte rar 100 μmoli/l. Activitatea fosfatazei alcaline plasmatice atinge valori de 10 ori mai mari decât valorile normale. Concentraţia acizilor biliari poate creşte de 100 de ori, reprezentând de multe ori singura anomalie biochimică. Această situaţie este rezolvată rapid după naştere, dar este asociată cu o creştere a riscului de prematuritate şi a naşterii unui copil mort.

Se întâlnesc şi sindroame hepatice specifice sarcinii. Steatoza hepatică acută gravidică este o afecţiune severă, rară, care se manifestă tipic la sfârşitul sarcinii prin vărsături, anorexie şi dureri abdominale, urmate de icter. Apare riscul evoluţiei spre o insuficienţă hepatică acută. Hiperuricemia este de exemplu o modificare biochimică precoce.

Hipertensiunea gravidică este specifică prin instalarea unei hipertensiuni, a unei proteinurii şi a edemelor în al treilea semestru de sarcină.

Ficatul şi medicamentele

Ficatul joacă un rol central în metabolismul a numeroase medicamente, transformându-le în metaboliţi polari, solubili în apă, şi care pot fi excretaţi în urină sau bilă. Enzimele implicate în metabolizare sunt situate la nivelul reticulului endoplasmatic neted al hepatocitelor.

În cadrul metabolismului, se disting două faze: prima fază cuprinde în principal reacţii de oxidare sau de demetilare, catalizate de enzimele dependente de citocromul P_{450}, şi faza a 2-a, prin care metaboliţii rezultaţi din faza 1 sunt conjugaţi cu molecule polare precum acidul glucuronic sau glutationul.

Toxicitatea iatrogenă hepatică este uneori previzibilă şi survine atunci când un metabolit toxic este produs printr-o reacţie din faza 1 la un nivel care depăşeşte capacitatea de detoxifiere prin reacţiile fazei 2, cum ar fi de exemplu cazul intoxicaţiei cu paracetamol. Cu toate acestea, numeroase medicamente au o toxicitate potenţială chiar dacă sunt utilizate în doze terapeutice (tabelul VI.6). Acest răspuns (heptotoxicitate idiosincrazică) este imprevizibil şi dependent de cantitatea administrată. Doar câteva reacţii idiosincrazice la

medicamente (de exemplu toxicitatea hepatică indusă de halotan) au o bază imunologică: legarea unui metabolit de proteinele celulare hepatice modifică antigenitatea şi determină un răspuns imunitar. Intoxicaţiile cu tetraclorură de carbon sunt un exemplu de toxicitate iatrogenă hepatică severă.

Unele medicamente sunt asociate instalării unei colestaze: poate fi vorba de un răspuns idiosincrazic, cum ar fi cel pentru clorpromazină, dar sunt prezente adesea şi manifestări de lezare hepatică. Alte molecule, cum ar fi anumiţi steroizi anabolizanţi, determină o colestază fără alterări hepatice atunci când sunt administraţi în doze puternice.

Tabel VI.6. Exemple de medicamente hepatotoxice.

Hepatotoxicitatea dependentă de doză	Paracetamol (supradoze) Salicilaţi (doar la doze foarte mari) Tetracicline (doar la doze foarte mari) Azatioprina Metotrexat
Hepatotoxicitatea idiosincrazică	Izoniazid Halotan Metildopa Rifampicina Dantrolen
Colestaza dependentă de doză	Metiltestosteron
Hepatite colestatice idiosincrazice	Clorpromazin Estolat de eritromicină Clorpropamid Tolbutamid Nitrofurantoin

Reacţiile idiosincrazice determină destul de frecvent mici disfuncţii hepatice, dar hepatotoxicitatea reală este din fericire rară. Markerii hepatici simpli sunt importanţi în detecţia hepatotoxicităţii în cursul testării clinice a noilor medicamente.

Alte efecte iatrogene hepatice se referă la fibroză sau ciroză (în special legată de metrotexat), formarea de granuloame, lezări vasculare şi apariţia tumorilor.

BIBLIOGRAFIE

1. Abbas A.K. and Lichtman A.H., **2004**, Basic Immunology. Functions and disorders of the immune system (Second Edition). *Saunders imprint of Elsevier Editions.*
2. AHA SCIENTIFIC STATEMENTS, **2005**, Managing Abnormal Blood Lipids: A Collaborative Approach. *Circulation*, **112**, 3184 – 3209.
3. Alberti K.G.M.M., Zimmet P.Z. for the WHO consultation, **1998**, Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Med*, **15**, 539-553 ; Report of a WHO consultation, Geneva, *WHO*, **1999**.
4. Alper C.A., Xu J., Cosmopoulos K. et al., **2003**, Immunoglobulin deficiencies and susceptibility to infection among homozygotes and heterozygotes for C2 deficiency. *J Clin Immunol*, **23**, 297–305.
5. American Diabetes Association, **2006**, Hyperglycemic Crises in Adult Patiens with Diabetes, Consensus Statement. *Dibetes Care*, **29(12)**, 2739-2748.
6. ANAES (Recommandations), **1999**, Suivi du patient diabetique de type 2 a l'exclusion du suivi des complications. *Diabetes Metab*, **25**, 9-50.
7. Artenie Vl., **1991**, Biochimie. *Editura Universităţii „Al. I. Cuza"* Iaşi.
8. Artenie Vl., Artenie R., **1991**, Introducere în metabolismul lipidelor. *Editura MatrixRom*, Bucureşti.
9. Artenie Vl. Ungureanu E., Negură A., **2008**, Metode de investigare a metabolismului glucidic şi lipidic. *Editura Pim.*
10. Ballow M., **2002**, Primary immunodeficiency disorders: antibody deficiency. *J Allergy Clin Immunol*, **109**, 581–591.
11. Bastard J.P., Vigouroux C. and Capeau J., **2001**, Syndrome metabolique ou syndrome d'insulinoresistance. *Encycl Med Chir (Paris), Endocrinologie-Nutrition*, 10-363-A-10.
12. Berliner J.A. and Heinecke J.W., **1996**, The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med*, **20**, 707-727.
13. Berliner J.A., Subbanagounder G., Leitinger N. *et al.*, **2001**, Evidence for a role of phospholipid oxidation products in atherogenesis. *Trends Cardiovasc Med*, **3-4**, 142-148.

14. Blacker D, Wilcox MA, Laird NM, *et al.*, **1998**, Alpha-2 macroglobulin is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet* **19** (4), 357–360.

15. Boer JP, Creasey AA, Chang A, Abbink JJ, *et al.*, **1993**, Alpha-2-macroglobulin functions as an inhibitor of fibrinolytic, clotting, and neutrophilic proteinases in sepsis: studies using a baboon model. *Infect Immun.* **61(12)**, 5035–5043.

16. Bogdanowicz P. and Pujol J.P., **2001**, Role des inositolphosphates glycanes dans la signalisation intracellulaire : relations avec la pathologie. *Med/Sci*, **17**, 577-585.

17. Bonnefont-Rousselot D., Bastard J.P., Jaudon M.C. and Delattre J., **2000**, Consequences of the diabetes status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab*, **26**, 163-176.

18. Bonnefont-Rousselot D., Therond P., Beaudeux J.L. *et al.*, **1999**, High density lipoproteins (HDL) and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med*, **37**, 939-948.

19. Braunwald E., 2004, Secondary dyslipidemias, 7th edition, (Part IV, Chapter 31. Braunwald Heart Disease), *W.B. Saunders Company.*

20. Brownlee M., **2001**, Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, **414**, 813-820.

21. Bruckert E., Bonnet J., Luc G., Bayer P., Farnier M., **2005**, Les examens à pratiquer devant une dyslipidemie. *Les Recommandatios de la Nouvelle Societe Franaise d'Atherosclerose.*

22. Burtis C.A., Ashwood E.R. and Tietz N.W., **1999**, Tietz Textbook of Clinical Chemistry. Third Eddition. *Burtis and Ashwood (Eds) WB Sunders, Philadelphia.* Chapter 34. Cardiac function :1185-1203.

23. Camejo G., Hurt-Camejo E., Wiklund O. and Bondjers G., **1998**, Association of apo B lipoproteins with arterial proteoglycans : pathological significance and molecular basis. *Atherosclerosis*, **139**, 205-222.

24. Chapel H., Haeney M., Misbah S. and Snowden N., **1999**, Essentials of Clinical Immunology (Forth edition). *Blackwell Science Ltd. Eds.*

25. Chatterjee S., **1998**, Sphingolipids in atherosclerosis and vascular biology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **18**, 1523-1533.

26. Chisolm G.M. and Steinberg D., **2000**, The oxidative hypothesis of atherogenesis : an overview. *Free Radic Biol Med*, **28**, 1815-1826.

27. Colles S.M., Maxson J.M., Carlson S.G. and Chisolm G.M., **2001**, Oxidized LDL-induced injury and apoptosis in atherosclerosis : potential roles for oxysterols. *Trends Cardiovasc Med*, **3-4**, 131-139.

28. Cooper M.A., Pommering T.L. and Koranyi K., **2003**, Primary immunodeficiencies. *Am Fam Physician*, **68**, 2001–2008.

29. Cossu P *et al.*, **1992**, Prenatal diagnosis of Wilson's disease by analysis of DNA polymorphism. *N Engl J Med*, **327**, 57.

30. Cousins R.J., **1985**, Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol. Rev.*, **65**, 238-309.

31. Cracowski J.L., Devillier P., Durand T. *et al.*, **2001**, Vascular biology of the isoprostanes. *J Vasc Res*, 38, 93-103.

32. Cucuianu M., **1977**, Biochimie clinică. Vol. I. *Editura "Dacia"*,Cluj-Napoca.

33. Cucuianu M., Olinic N., Goia A., Fekete T., **1979**, Biochimie clinică. Vol. II. *Editura "Dacia"*, Cluj-Napoca.

34. Cucuianu M., Rus H.G., Niculescu D., Vonica A., **1991**, Biochimie. Aplicații clinice. *Editura "Dacia"*,Cluj-Napoca.

35. DCCT Research Group, **1993**, The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependant diabetes mellitus. *N Eng J Med*, **329**, 977-986.

36. De Backer G., Ambrosidi E., Borch-Johnsen K. *et al.*, **2004**, European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice: Third Joint Task Force of European and other Societes on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Atherosclerosis*, **171**, 145-155.

37. Delattre J., Durand G., Jardillier J-C., 2003, Biochimie pathologique. Aspects moléculaires et cellulaires. *Flammarion Medecine-Sciences*.

38. Desvergne B. and Wahli W., **1999**, Peroxisome-proliferator-activated receptors : nuclear control of metabolism. *Endocrine Rev*, **20**, 649-688.

39. Detournay B., Vauzelle-Keervroedan F., Charles M.A. *et al.*, **1999**, Epidemiologie, prise en charge et cout du diabete de type 2 en France en 1998. *Diabetes Metab*, **25**, 356-365.

40. Dinu V., Truția E., Popa-Cristea E., Popescu A., **1998**, Biochimie medicală. Mic tratat. *Editura Medicală*, București.

41. Dinu V., Truția E., Popa-Cristea E., Popescu A., **1991**, Tratat de biochimie medicală. Vol. I, II. *Editura Medicală*, București.

42. Durrington P., **2003**, Dyslipidaemia. *The Lancet*, **362**, 717-731.

43. Durrington P.N., Mackness B. and Mackness M.I., **2001**, Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **21**, 473-480.

44. Esterbauer H., Dieber-Rothender M., Waeg G. *et al.*, **1990**, Biochemical, structural, functional properties of oxidized low-density lipoproteins. *Chem Res Toxicol*, **3**, 77-92.

45. Etzioni A., **2003**, Immune deficiency and autoimmunity. *Autoimmun Rev*, **2**, 364–369.

46. Eurodiab ACE Study Group, **2000**, Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet*, **355**, 873-876.

47. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, **2001**, Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*, **285**, 2486-2497.

48. Fajans S.S., Bell R.I. and Polonski S., **2001**, Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N Engl J Med*, **345**, 971-980.

49. Fell D.A., 1997, Understanding the Control of Metabolism. *Portland Press Ltd.*, London.

50. Fischer A., **2004**, Human primary immunodeficiency diseases: a perspective. *Nat Immunol*, **5**, 23–30.

51. Florian A., Stanciu S., Blaj Ş., Aprilie **2006**, Dislipidemiile. *Stetoscop*, **49**.

52. Forum, **2000**, Role of oxidation in atherosclerosis. *Free Radic Biol Med*, **28**, 1681-1826.

53. Francis G.A., **2000**, High density lipoprotein oxidation : in vitro susceptibility and potential in vivo consequences. *Biochim Biophys Acta*, **1483**, 217-235.

54. Fruchart J.C., Duriez P. and Staels B., **1999**, Peroxisome-proliferator-activated receptor-alpha activators regulate genes governing lipoprotein metabolism, vascular inflammation and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, **10**, 245-257.

55. Fruton J.S., **1999**, Proteins, Genes, and Enzymes: The Interplay of Chemistry and Biology, *Yale University Press*, New Haven.

56. Gaut J.P. and Heinecke J.W., **2001**, Mechanisms for oxidizing low density lipoprotein. Insights from patterns of oxidation products in the artery wall and from mouse models of atherosclerosis. *Trends Card Vasc Med*, **11**, 103-112.

57. Gaw A., Murphy M., Cowan R., O'Reilly D., 2004, Biochimie clinique. *Elsevier*.

58. Gerich J.E., Meyer C., Woerle H.J. and Stumvoll M., **2001**, Renal gluconeogenesis: its importance in human glucose homeostasis. *Diabetes Care*, **24**, 382–391.

59. Gillard J., **2003**, Troponins: The New Cardiac Marker of Choise. *Emergency Medicine. Acute Medicine for the Primary Care Physician*. MEDLINE.

60. Gillotte K., Horkko S., Witzum J.L. and Steinberg D., **2000**, Oxidized phospholipids, linked to apolipoprotein B of oxidized LDL, are ligands for macrophage scavengers receptors. *J Lipid Res*, **41**, 824-833.

61. Girard J., **1999**, Fondements physiopatologiques du diabete de type 2. *Rev Prat*, **49**, 22-29.

62. Giurgea I., Ribeiro M-J., Boddaert N., Touati G., Robert J-J, Saudubray J-M, Jaubert F., Bellanné-Chantelot C., Brunelle F., Nihoul-Fékété C. and de Lonlay P., **2005**, L'hyperinsulinisme congénital du nouveau-né et du nourrisson (Congenital hyperinsulinism in newborn and infant). *Archives de Pédiatrie*, **12(11)**, 1628-1635.

63. Gleeson T., **1996**, Post-exercise lactate metabolism: a comparative review of sites, pathways, and regulation. *Annu Rev Physiol*, **58**, 565–581.

64. Goldsby R.A., Kindt T.J. and Osborne B.A., **2002**, Kuby Immunology (Fifth Edition). *W.H. Freeman Publisher*.

65. Grimaldi A. and Hartemann-Heurtier A., **2000**, Diabete insulinodependant. *Rev Prat*, **50**, 1473-1484.

66. Grundy S.M., Balady C.J., Criqui M.H. *et al.*, 1998, Primary prevention of coronary Heart disease: Guidance from Framingham. A statement for healthcare professionals from the AHA Task Force on Risc reduction. *Circulation*, **97**, 1876-1887.

67. Gurr M.I. and Harwood J.L., **1991**, Lipid Biochemistry: An Introduction (4th edition). *Chapman & Hall*, London.

68. Hamm C.W., 1994, New Serum Markers for Acute Myocardial Infarction. Editorial. *N Engl J Med.*, 331(9), 607-608.

69. Harris A.L., **2002**, Hypoxia—a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer*, **2**, 38–47.

70. Heinecke J.W., **1997**, Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, **8**, 268-274.

71. Henricksen T.E, Mahone M. and Steinberg D., **1981**, Enhanced macrophage degradation of low-density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells : recognition by receptors for acetylated low-density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, **78**, 6499-6503.

72. Hers H.G. and Hue L., **1983**, Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis. *Annu Rev Biochem*, **52**, 617–653.

73. Ionescu-Tîrgovişte C., 2004, Tratat de Diabet Paulescu. *Ed. Academiei Române*, pag. 1133-1141.

74. IUIS Scientific Committee, **1999**, Report. Primary immunodeficiency diseases. *Clin Exp Immunol*, **118** (Suppl 1), 1–28.

75. Janeway C.A., Travers P., Walport M. and Shlomchik M.J., **2001**, Immunobiology. The immune system in health and disease (Fifth edition). *Garland Publishing*, New York.

76. Kaplan M. and Aviram M., **1999**, Oxidized low density lipoprotein : atherogenic and proinflammatory characteristics during macrophage foam cell formation. An inhibitory role for nutritional antioxidants and serum paraoxonase. *Clin Chem Lab Med*, **37**, 777-787.

77. Karam J.H., **1997**, Pancreatic hormones and diabetes mellitus. Hypoglicemic disorders. In : Greenspan F.S. and Strewler G.J., Basic and clinical endocrinology. *East Norwalk Appleton&Lange*, 595-679.

78. King H., **1998**, Epidemiology of glucose intolerance and gestational diabetes in women of childbearing age. *Diabetes Care*, **21**, B9-B13.

79. King H., Aubert R.E. and Herman W.H., **1998**, Global burden of diabetes, 1995-2025. *Diabetes Care*, **21**, 1414-1432.

80. Kita T., Kume N., Minami M. *et al.*, **2001**, Role of oxidized LDL in atherosclerosis. *Ann NY Acad Sci*, **947**, 199-206.

81. Law M.R., Wald N.J., Thompson S.G., **1994**, Serum cholesterol reduction and health: By much and how quickly is the risk of iscaemic heart disease lowered? *Br Med J*, **308**, 367-372.

82. Lemmon M.A. and Ferguson K.M., **2000**, Signal-dependent membrane targeting by pleckstrin homology (PH) domains. *Biochem J*, **350**, 1–18.

83. Leonarduzzi G, Arkan M.C., Basaga H. *et al.*, **2000**, Lipid oxidation products in cell signaling. *Free Radic Biol Med*, **28**, 1370-1378.

84. Lesser P.B., Warshaw A.L., **1973**, Diagnosis of pancreatitis masked by hyperlipemia. *A. int. Med.*, **82**, 795.

85. Lotze M.T. and Thomson A.W., **2005**, Measuring Immunity: Basic Biology and Clinical Assessment. *Elsevier Academic Press*.

86. Maechler P. and Wollheim C.B., **2001**, Mitochodrial function in normal and diabetic β cells. *Nature*, **414**, 807-812.

87. Magnani H.N., Alaupovic P., **1976**, Utilization of the quantitative assay of lipoprotein X in the differential diagnosis of extrahepatic obstructive jaundice and intrahepatic diseases. *Gastroenterology*, **71**, 87.

88. Mak T.W. and Saunders M.E., **2006**, The immune response. Basic and clinical principles. *Academic Press imprint of Elsevier.*

89. Mallat Z. and Tedgui A., **2000**, Apoptosis in the vasculature : mechanisms and functional importance. *Br J Pharmacol*, **130**, 947-962.

90. Marathe G.K., Prescott S.M., Zimmerman G.A. *et al.*, **2001**, Oxidized LDL contains inflammatory PAF-like phospholipids. *Trends Cardiovasc Med*, **3-4**, 139-142.

91. Marcil M., Brooks-Wilson A. *et al.*, **1999**, Mutations in the *ABC 1* gene in familial HDL deficiency with defective cholesterol efflux. *The Lancet*, **354**, 1341-1346.

92. Marshall W-J., Stephen-K Bangert S-K., Raynaud E., **2000**, Biochimie médicale: Physiopathologie et diagnostic. *Elsevier.*

93. Mauvais-Jarvis F., Andreelli F., Hanaire-Broutin H. et al., **2001**, Therapeutic perspectives for type 2 diabetes mellitus : molecular and clinical insights. *Diabetes Metab*, **27**, 415-423.

94. Metzger B.E., Coustan D.R. and the organizing comittee, **1998**, Summary and recommendations of the fourth international workshop-conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **21**, B161-B167.

95. Meulenbroek A.J. and Zeijlemaker W.P., **1996**, Human IgG Subclasses: Useful diagnostic markers for immunocompetence. *Amsterdam: CLB.*

96. Mihele D., Pavlovici M., **1996**, Biochimie clinică - metode de laborator. *Editura Medicală*, Bucureşti.

97. Minami M., Kume N., Shimaoka T. *et al.*, **2001**, Expression of scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized lipoprotein (SR-PSOX) in human atheroma. *Ann NY Acad Sci*, **947**, 373-376.

98. Módy E., Funduc I., Alexandrescu R., Dobreanu M., **2000**, Biochimie clinică, *All Educational*.

99. Mogoş V.T., **2001**, Mică enciclopedie de urgenţe metabolice. *Ed. Enciclopedică*, pag. 5-19.

100. Morel D.W., Hessler J.R. and Chisolm G.M., **1983**, Low-density lipoprotein citotoxicity by free radical peroxidation of lipid. *J Lipid Res*, **24**, 1070-1076.

101. Navab M., Berliner J.A., Watson A.D. *et al.*, **1996**, The yin and the yang of oxidation in the development of the fatty streak. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **16**, 831-842.

102. Nordlie R.C., Foster J.D. and Lange A.J., **1999**, Regulation of glucose production by the liver. *Annu Rev Nutr*, **19**, 379–406.

103. Onkamo P., Vaananen S., Karvonen M. and Tuomilehto J., **1999**, World-wide increase in incidence of type 1 diabetes. *Diabetologia*, **42**, 1395-1403.

104. Parthasarathy S., Santanam M., Ramanchandron S. *et al.*, **1999**, Oxidants and antioxidants in atherogenesis : an appraisal. *J Lipid Res*, **40**, 2143-2157.

105. Paul W.E., **2003**, Fundamental Immunology (Fifth Edition). *Lippincott Williams & Wilkins Publishers.*

106. Păun R., **1986**, Tratat de medicină internă: Boli de metabolism şi nutriţie. *Editura Medicală.*

107. Percival S.S., **1998**. Copper and immunity. *Am. J. Clin. Nutr.*, **67**, 1064S-1068S.

108. Pickup J.C., Williams G.,**2003**, Textbook of Diabetes, 3rd ed., *Blackwell Publishing*, pag. 32.1-32.20.

109. Pilkis S.J. and Granner D.K., **1992**, Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annu Rev Physiol*, **54**, 885–909.

110. Puck J.M., **1997**, Primary immunodeficiency diseases. *J Am Med Assoc*, **278**, 1835–1841.

111. Radziuk J. and Pye S., **2001**, Hepatic glucose uptake, gluconeogenesis and the regulation of glycogen synthesis. *Diabetes/Metab Res Rev*, **17**, 250–272.

112. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **1997**, **20**, 1183-1197.

113. Richards M.P., **1999**. Zinc, copper and iron metabolism during porcine fetal development. *Biol. Trace Element Res.*, **69**, 27-44.

114. Roitt I., Brostoff J. and Male D.K., **2001**, Immunology (Sixth Edition). *Mosby Publisher.*

115. Ross R., **1999**, Atherosclerosis : an inflammatory disease. *N Engl J Med*, **340**, 115-125.

116. Shimaoka T.N., Kume M. and Minami M., **2000**, Molecular cloning of a novel scavenger receptor for oxidized lipoprotein, SR-PSOX, on macrophages. *J Biol Chem*, **275**, 40663-40666.

117. Shulman G.I., **2000**, Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*, **106**, 171-176.

118. Siest G., Henny J., Schiele F., **1990**, Références en Biologie Clinique. *Elsevier Option Bio*, 515-529.

119. Simo J.B., Poon R.W.M, **1978**, Lipoprotein-X levels in extrahepatic versus intrahepatic cholestasis. *Gastroenterology*, **75**, 1094.

120. Solano M.P., Goldberg R.B., **2006**, Lipid management in type 2 diabetes. *Clinical Diabetes*, **24(1)**, 27-32.

121. Steinberg D., Parthasarathy S., Carew T.E. *et al.*, **1989**, Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*, **320**, 915-924.

122. Steinbrecher U.P., **1999**, Receptors for oxidized low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta*, **436**, 279-298.

123. Steppan C.M. and Lazar M.A., **2002**, Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab*, **13**, 18-23.

124. Sternlieb I, **1992**, Evolution of the hepatic lesion in Wilson's disease (hepatolenticular degeneration), in Progress in Liver Diseases, *H Popper et al (eds). New York, Grune & Stratton*, **vol.IV**, pp 511-526.

125. Tchobroutsky G., **1998**, Grossesse et diabete. *Rev Prat*, 48, 93-97.

126. Tiselius A. and Kabat E.A., **1939**, An electrophoretic study of immune sera and purified antibody preparations. *J. Exp. Med.*, **69**, 119-131.

127. Topol E.J. *et al.*, 2002, Textbook of Cardiovascular Medicine 2002, 2nd edition, (Part 3: Secondary disorders of lipoprotein metabolism), *Lippincott Williams and Wilkins Eds.*

128. Uchida K., **2000**, Role of reactive aldehyde in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med*, **28**, 1685-1696.

129. UKPDS Group, **1998**, Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*, **352**, 837-853.

130. Underwood E.J., Suttle N.F., **1999**. Copper. In : The minernutrition of livestock. Ed. 3, CABI Publishing,Wallingford,UK, 283-342.

131. Vance D.E. and Vance J.E. (eds), **2002**, Biochemistry of Lipids, Lipoproteins, and Membranes, New Comprehensive Biochemistry, Vol. 36. *Elsevier Science Publishing Co Inc*, New York.

132. Vasson M.-P., Cynober L., Raichvarg D., **1996**, L'alpha-1 glycoprotéine acide orosomucoïde, (Alpha-1 acid glycoprotein orosomucoid). *Nutrition clinique et métabolisme*, **10(3)**, 177-196.

133. Virella G., **1998**, Introduction to medical immunology (Forth edition), *Marcel Drecker Inc. Editions.*

134. Wasowska-Królikowska K., Kurnatowski M., Krogulska A., **1997**, Hyperlipidemia - paediatric aspect. *Med Sci Monit*, **3(6)**, 924-928.

135. Witztum J.L. and Berliner J.A., **1998**, Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, **9**, 441-448.

136. Wood T., **1985**, The Pentose Phosphate Pathway. *Academic Press Inc.*, Orlando, FL.

137. Wood T., **1986**, Physiological functions of the pentose phosphate pathway. *Cell Biochem Funct*, **4**, 241–247.

138. Yla-Herrtuala S., Rosenfeld M.E., Parthasarathy S. *et al.*, **1990**, Colocalization of 15-lipoxygenase mRNA and protein with epitopes of oxidized low-density lipoprotein in macrophage-rich areas of atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA*, **87**, 6959-6963.

139. Young S.G. and Fielding C.J., **1999**, The ABCs of cholesterol efflux. *Nature genetics*, **22**, 316-318.

140. Zamfirescu-Gheorghiu M., Popescu A., **1991**, Tratat de biochimie medicală. Vol. II. *Editura Medicală*, Bucureşti.

141. Zimmerman J, Fromm R, Meyer D, *et al.*, **1999**, Diagnostic marker cooperative study for the diagnosis of myocardial infarction. *Circulation*, **99**, 1671-1677.

Înainte de a face o analiză,
gândeşte-te ce vei face dacă rezultatul este:
1. pozitiv
2. negativ
Dacă ambele răspunsuri sunt identice,
atunci renunţă la analiză!

(aforismul lui Cochrane)

